



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

***TOXOPLASMA GONDII* E TOXOPLASMOSE: EPIDEMIOLOGIA,
PATOLOGIA, DIAGNÓSTICO E NOVOS TRATAMENTOS.**

Trabalho submetido por
JUAN MIGUEL MARTIN MORAL
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

***TOXOPLASMA GONDII* E TOXOPLASMOSE: EPIDEMIOLOGIA,
PATOLOGIA, DIAGNÓSTICO E NOVOS TRATAMENTOS**

Trabalho submetido por
Juan Miguel Martin Moral
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Maria Guilhermina Martins Moutinho

novembro de 2020

Dedicatória.

O fruto deste trabalho é dedicado a minha esposa, María; a pessoa por quem mudei de profissão e estudei farmácia. Para ela, eu me esforço mais a cada dia e tento ser melhor.

Obrigado por todos os dons fruto da nossa vida juntos.

Agradecimentos

Quero antes de tudo agradecer a minha família, esposa e filhos, pelos sacrifícios que tiveram que fazer ao longo dos anos devido às minhas ausências de casa e aos tempos livres que não pude dedicar a eles; espero poder compensar essas deficiências.

Agradeço aos meus pais, irmãos (biológicos e políticos) pelo apoio e força para navegar neste mar.

Como não poderia ser de outra forma, esta tese não seria possível sem o trabalho, a ajuda e o apoio da minha orientadora de tese, Professora Doutora. Maria Guilhermina Martins Moutinho. Agradeço tudo, ainda mais, devido à pandemia e seu impacto em nossas vidas.

Por outro lado, não posso deixar de agradecer aos membros da comunidade universitária do Instituto Universitário Egas Moniz (alunos, professores e equipa de secretária), que têm sido a minha família desde há anos, pela enorme ajuda. Agradeço o vosso esforço para compensar as minhas grandes deficiências da língua portuguesa e do companheirismo para me adaptar a um curso já iniciado e ao qual aderi com idade e em circunstâncias inusitadas.

A Egas ofereceu-me um local de estudo e formação, um espaço de convivência com as novas gerações e uma cama onde dormir. Meus colegas e professores me acompanharam no nascimento dos meus filhos, preocuparam-se em me ajudar a continuar avançando; até me deram roupas quando vieram ao mundo (muito obrigada por tudo Madalena)

Portugal não só contribuiu para a minha vida com uma educação universitária; aumentou o tamanho do meu mundo e conseguiu conquistar o meu coração, dando-me um novo olhar sobre esta Europa em que vivemos e partilhamos.

Às portas do final deste ciclo, olho para trás com alegria e para a frente na esperança de continuar a viver esta experiência com a Egas, os meus colegas e professores e com Portugal.

Obrigado sempre

RESUMO

A toxoplasmose é uma doença zoonótica, de origem felina, cujo agente etiológico é o protozoário *Toxoplasma gondii* – um parasita intracelular, ubíquo encontrado numa grande variedade de hospedeiros, incluindo o Homem. Estima-se que um terço da população mundial sofra da doença de forma aguda e um quarto da forma crónica (Cerutti *et al.*, 2020).

Esta doença continua a ser, nos dias de hoje, um grande desafio na gestão da saúde pública em todo o mundo, principalmente nos países subdesenvolvidos. A doença tem particular importância nos imunocomprometidos e nos fetos das mulheres grávidas (Nayeri T *et al.*, 2020; Gómez-Chávez *et al.*, 2020); uma vez que o parasita tem a capacidade de atravessar a barreira placentária e provocar lesões no feto (Zhou X *et al.*, 2020). O *Toxoplasma gondii* pode ser responsável por abortos precoces e por toxoplasmose congénita que pode originar desde malformações fetais, que se manifestam nos recém-nascidos como sérios distúrbios físicos e cognitivos como conduzir à morte (Nayeri T *et al.*, 2020; Gómez-Chávez *et al.*, 2020).

Para além da fase aguda, geralmente auto-limitada nos indivíduos imunocompetentes, o parasita tem a capacidade de persistir no organismo sob forma dormente (bradizoíto) dentro de quistos. Uma vez que esta fase não é eliminada pelos tratamentos atuais, pode reactivar nos hospedeiros imunocomprometidos e conduzir a resultados potencialmente fatais (Cerutti *et al.*, 2020).

Atualmente, a toxoplasmose congénita é uma doença de notificação obrigatória nos sistemas de saúde portugueses e espanhóis. Os dados revelam que em Portugal, a seroprevalência em mulheres grávidas é de 33% no sul e cerca de 13% no norte do país; por outro lado, em Espanha, é de 11% no sul e 28% no norte.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, seroprevalência, toxoplasmose congénita, tratamento toxoplasmose.

ABSTRACT

The Toxoplasmosis is a zoonotic disease, of feline origin, whose etiologic agent is the protozoan *Toxoplasma gondii* - an intracellular parasite, ubiquitous found in a wide variety of hosts, including man. It is estimated that one third of the world population suffers from the disease acutely and a quarter from the chronic form (Cerutti et al., 2020).

This disease continues to be, today, a major problem in public health management worldwide, especially in underdeveloped countries. The disease is particularly important in immunocompromised and pregnant women (Nayeri T et al., 2020; Gómez-Chávez et al., 2020); since the parasite has the ability to cross the placental barrier and cause injury to the fetus (Zhou X et al., 2020). *Toxoplasma gondii* can be responsible for early abortions and for congenital toxoplasmosis that can originate from fetal malformations that manifest in newborns as serious physical and cognitive disorders or, even, lead to death (Nayeri T et al., 2020; Gómez-Chávez et al., 2020).

In addition to an acute phase, usually self-limited in immunocompetent individuals, the parasite has the ability to persist in the organism in a dormant form (bradyzoite) within a cyst. Since this phase is not eliminated by current treatments, it can reactivate in immunocompromised hosts and lead to potentially fatal results (Cerutti et al., 2020)

Currently, congenital toxoplasmosis is a notifiable disease in Portuguese or Spanish health systems. In Portugal, seroprevalence in pregnant women is 33% in the south and about 13% in the north of the country; in Spain, on the other hand it is 11% in the south and 28% in the north.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, seroprevalence, congenital toxoplasmosis, toxoplasmosis treatment.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABELAS	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	9
1. OBJETIVOS DA REVISÃO	10
2. METODOLOGIA	11
3. INTRODUÇÃO	14
3.1. Toxoplasmose.....	14
3.2. <i>Toxoplasma gondii</i>	14
3.2.1. Morfología.....	14
3.2.1.1. Taquizoíto.....	15
3.2.1.2. Bradizoíto	16
3.2.1.3. Ooquistos.....	17
3.2.2. Ciclo biológico e epidemiológico	18
3.2.2.1. Ciclo de vida do <i>T. gondii</i>	19
4. PATOGENIA E PATOLOGIA.....	23
4.1. Fase aguda	23
4.1.1. Ciclo lítico do <i>Toxoplasma gondii</i>	24
4.2. Fase crónica.....	26
4.3. Toxoplasmose congénita.	27
4.3.1. Aborto espontâneo precoce devido a toxoplasmose.....	30
4.4. Toxoplasmose não congénita	30
4.4.1. Imunidade	31
4.5. Bradizoíto, forma chave da patologia	34
5. CLÍNICA.....	36
5.1. Clínica no recém-nascido	37
6. EPIDEMIOLOGIA	39

6.1.	Vectores zoonóticos da patologia.....	40
6.2.	Situação epidemiológica em Espanha.	40
6.3.	Situação epidemiológica em Portugal	42
6.4.	Situação atual da toxoplasmose congénita.	46
6.4.1.	Toxoplasmose congénita no mundo	46
6.4.2.	Toxoplasmose congénita em Espanha.	47
6.4.3.	Toxoplasmose congénita em Portugal	54
7.	DIAGNÓSTICO.....	55
7.1.	Métodos diretos	55
7.1.1.	Técnicas moleculares: Reação em Cadeia da Polimerase.	55
7.1.2.	Técnicas de isolamento do parasita	56
7.2.	Métodos indiretos	57
7.3.	Diagnóstico em mulheres grávidas.....	59
7.4.	Diagnóstico de infeção no feto	59
7.5.	Diagnóstico de lesões fetais.....	60
8.	TRATAMENTO	61
8.1.	Tratamento em imunocompetentes e mulheres não grávidas.....	62
8.2.	Tratamento na Toxoplasmose ocular.	64
8.3.	Tratamento toxoplasmose congénita.....	66
8.4.	Tratamento em pacientes imunodeprimidos.	70
8.4.1.	Pacientes infetados pelo VIH	70
8.4.2.	Pacientes receptores de transplante de células hematopoiéticas (HCT)... 72	
8.4.3.	Transplantes de órgãos sólidos (SOT).....	72
8.4.4.	Toxoplasmose em imunocomprometidos nem transplantados nem com	
VIIH.	73
8.5.	Novas estratégias no tratamento da fase crónica.....	73
8.5.1.	Bloqueio do processo de diferenciação fechando programas de transcrição	
ou tradução	74

8.5.2.	Interferir na biogénese ou na integridade da parede do quisto.....	75
8.5.3.	Identificação de pontos fracos metabólicos.....	76
8.6.	Prevenção	76
8.6.1.	Tratamentos da carne para eliminar a viabilidade do <i>T. gondii</i>	76
8.6.2.	Prevenção de toxoplasmose em mulheres grávidas não imunes	80
8.7.	Vacinas	81
9.	DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	82
10.	BIBLIOGRAFIA.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Representação do trofozoito de <i>T. gondii</i> (Adaptado de M. W. Black and J. C. Boothroyd., 2010).....	15
Figura 2 Citoesqueleto do trofozoito de <i>T. gondii</i> (Adaptado de M. W. Black and J. C. Boothroyd., 2010).....	16
Figura 3 Estrutura do bradizoíto (Adaptado de Dubey et al, 1998)	17
Figura 4.. Tipos do ooquistos de <i>T. gondii</i> (Adaptado de J.M. Úbeda; 2018)	17
Figura 5 Estrutura do esporozito de <i>T. gondii</i> (Adaptado de Dubey et al, 1998).....	18
Figura 6 Ciclos biológicos monoxeno (gato) e heteroxeno (humano) do <i>T. gondii</i> (J.M. Úbeda 2018)	20
Figura 7 Processo de divisão por endodiogénese de <i>T. gondii</i> (Adaptado de J.M. Úbeda 2018).....	21
Figura 8 Danos por toxoplasmose no Homem (Adaptado de Charron AJ, Sibley LD; 2004).....	24
Figura 9 Ciclo lítico do <i>T. gondii</i> (Adaptado de Michael W. Black; John C. Boothroyd; 2000).....	26
Figura 10 Resposta imunológica na transmissão congénita mãe-filho (Adaptado de Gómez-Chávez F.; et al; 2020).....	29
Figura 11 Representação esquemática da ativação e translocação de JAK-STAT para o núcleo. (Adaptado de Shuai et al., 2003).....	33
Figura 12 Manifestações clínicas da toxoplasmose em humanos (JM Úbeda, 2018)	38
Figura 13 Diagrama de Pareto com a distribuição percentual de toxoplasmose por regiões da Espanha. Em laranja, a linha que mostra a porcentagem total acumulada característica dos diagramas de pareto.	42
Figura 14 Seroprevalencia histórica comparativa de toxoplasmose em Portugal (Gargaté M. J. et al.; 2016).....	43
Figura 15 Seroprevalência por idade. (Gargaté M. J. et al.; 2016).....	45
Figura 16 Seroprevalencia frente a <i>T. gondii</i> em mulheres grávidas em função da idade (Bartolomé et al., 2008).....	49
Figura 17 Seroprevalência do <i>T. gondii</i> em mulheres grávidas de diferentes partes da Espanha e em diferentes anos (López-Fabal y Gómez-Garcés, 2013).	51
Figura 18 Distribuição das percentagens de mulheres grávidas seropositivas por população (López-Fabal y Gómez-Garcés, 2013).	52

Figura 19 Percentagens de casos clínicos resultantes de toxoplasmose na Extremadura entre 2002 e 2006 (Serviço de Saúde da Extremadura).....	53
Figura 20 Detecção de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em recém-nascidos por métodos indiretos (ELISA) (Robert-Gangneux y Dardé, 2012)	57
Figura 21 Algoritmo sorológico em mulheres grávidas (Adaptada de J.M. Úbeda, 2018)	59
Figura 22 História dos tratamentos contra o <i>T. gondii</i> (Adaptada de Dunay IR, et al; 2018).....	61
Figura 23 Alvos terapêuticos dos medicamentos contra <i>T. gondii</i> (Adaptada de Dunay IR, et al; 2018).....	62
Figura 24 O fator de transcrição (BFD1) desencadeia a transformação do <i>T. gondii</i> da fase taquizoítica para a fase bradizoíta (Adaptado de B. S. Waldman, 2020).....	74
Figura 25 Viabilidade de <i>T. gondii</i> após a aplicação de diferentes tratamentos no processo de cura de presuntos e paletas de porco (Gómez-Samblas et al., 2016).....	79

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Percentagens de seroprevalência em diferentes regiões espanholas (Calero Bernal. R., 2013; Sampedro et al. 2010; Gil-Tomás et al., 2011; Cebollada-Sánchez et al; 2011; Panadero-Fontán, R. et al 2009; Bartolomé Álvarez et al, 2008).....	41
Tabela 2 Evolução da toxoplasmose por regiões em Portugal. (Gargaté M. J. et al.; 2016).....	44
Tabela 3 Seroprevalência de mulheres por faixa etária (Gargaté M. J. et al; 2016).....	46
Tabela 4 Seroprevalência em imigrantes grávidas com base no local de nascimento (Bartolomé et. al., 2008).....	48
Tabela 5 Prevalência de IgG anti- <i>T. gondii</i> por faixa etária em mulheres grávidas (Bartolomé et al., 2008).....	49
Tabela 6 Estudos espanhóis sobre a incidência de infecção por <i>T. gondii</i> (Bartolomé et al., 2008).....	53
Tabela 7 Métodos diretos de diagnóstico (Barquero - Artigao et al; 2013)	56
Tabela 8 Risco de envolvimento fetal (Barrios, Patricia et al, 2016).....	60
Tabela 9 Tratamento utilizado nos imunocompetentes (adaptada de Dunay. I. R; et al; 2018).....	63
Tabela 10 Tratamento da toxoplasmose em imunocompetentes (Dunay I.R.; et al 2018)	64
Tabela 11 Tratamento preventivo toxoplasmose ocular (Dunay, I.R; et al; 2018)	65
Tabela 12 Terapia de toxoplasmose em mulheres grávidas (Adaptada de Baquero-Artigao F. et al 2012. SEIP)	67
Tabela 13 Tratamento da toxoplasmose aguda em mulheres grávidas FDA (Adaptada de Dunay, I.R; et al; 2018)	68
Tabela 14 Terapia alternativa para mulheres grávidas alérgicas. (Baquero-Artigao F. et al 2012. SEIP).....	68
Tabela 15 Tratamento da toxoplasmose congénita em recém-nascidos (Dunay, I.R; et al; 2018).....	69
Tabela 16 Tratamento de toxoplasmose aguda em imunossuprimidos (Adaptada de Dunay, I.R; et al; 2018)	71

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ACSA: Agência catalã de segurança alimentar

AMA: Antigénio de membrana apical

CDPK: Calcium dependant protein kinase

DGS: Direcção Geral de Saúde

DNO: Doença de notificação obrigatória

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Food and drug administration

GRA: Proteína de grânulos densos

VIH: Human Immunodeficiency virus

IFD: Imunofluorescência direta

IFI: Imunofluorescência direta

IL: Interleucina

LCR: Líquido cefalorraquídeo

MVP: Membrana vacuolar parasitófora

PCR: Polymerase Chain Reaction.

RE: Retículo endoplasmático

SEIP: Sociedade Espanhola de Infectologia Pediátrica

SIM: Sistema de informação microbiológica

SES: Sistema de saúde da Estremadura

TO: Toxoplasmose Ocular

TORCH: Toxoplasmose ocular, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes simplex

VP: Vacuólo parasitóforo

VPP: Valor preditivo positivo.

1. OBJETIVOS DA REVISÃO

O presente trabalho teve, como objetivo principal, fazer uma revisão bibliográfica de forma a conhecer a situação actual:

- 1) Da epidemiologia, tendo como alvo principal a prevalência da infeção por *T. gondii* em mulheres grávidas residentes em Portugal e Espanha.
- 2) Dos métodos de diagnóstico e tratamentos disponíveis a nível mundial e em particular na Península Ibérica.
- 3) Da prevalência da doença em suínos de proveniência espanhola e portuguesa bem como dos métodos de prevenção da infeção no seu consumo.

2. METODOLOGIA

A metodologia seguida para a elaboração desta monografia consistiu na pesquisa bibliográfica e na revisão de trabalhos e bases de dados bibliográficos.

As fontes de informação utilizadas para realizar esta revisão bibliográfica estão fundamentalmente relacionadas com a epidemiologia da toxoplasmose na Península Ibérica, abrangendo Portugal e Espanha. Nesse sentido, as principais palavras-chave utilizadas na pesquisa de informações foram: ***Toxoplasma gondii*, seroprevalência, toxoplasmose congénita, tratamento toxoplasmose.**

Ao usar o banco de dados em inglês, foi necessário utilizar ferramentas de tradução. As ferramentas de tradução utilizadas foram:

- Dicionário online “Word Reference” (inglês-espanhol): <http://www.wordreference.com/es/>
- Dicionário online “Linguee” (inglês-espanhol): <http://www.linguee.es/espanol-ingles/>
- Dicionário online “Reverso Context” (Português-espanhol): <https://context.reverso.net/traduccion/espanol-portugues/traductor>

As principais fontes de informação têm sido utilizadas em bancos de dados e revistas científicas. Para isso, foi usado o Portal da Web da Biblioteca da Universidade de Sevilha (<https://bib.us.es/>), através do Catálogo Fama + (<http://fama.us.es/>), um recurso adquirido durante o período de Erasmus em Sevilha.

Os bancos de dados usados para esta pesquisa bibliográfica foram:

- The Cochrane Library: Uma coleção de bancos de dados sobre ensaios clínicos controlados na medicina e noutras áreas da saúde relacionadas com as informações armazenadas na coleção Cochrane.
<https://www.cochrane.org/es/evidence>
- Repositório científico do instituto nacional de saúde Doutor Ricardo Jorge: Repositório digital e de livre acesso que disponibiliza o acervo de publicações científicas produzidas na instituição.
<http://repositorio.insa.pt/>

- Fisterra: A principal ferramenta de informação médica na Atenção Básica da Espanha e a recomendada pela Faculdade de Farmácia de Sevilha para a pesquisa dos seus alunos no desenvolvimento dos trabalhos académicos. Mais de 50.000 profissionais o utilizam todos os dias na sua prática clínica.
<https://www.fisterra.com/>
- PubMed: É um mecanismo de pesquisa de acesso gratuito ao banco de dados Medline de citações e resumos de artigos de pesquisa biomédica.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- PubMed Central® (PMC): É um arquivo de texto completo gratuito da literatura biomédica e de ciências da saúde do U.S. National Institutes of Health's National Library of Medicine (NIH/NLM).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>
- Scientific Electronic Library Online (SciELO): SciELO é uma biblioteca virtual de acesso livre composta por uma coleção de revistas científicas em ciências da saúde selecionadas de acordo com critérios de qualidade pré-estabelecidos.
<https://scielo.org/en/>
- National Library of Medicine (MedlinePlus): É um serviço de informações on-line fornecido pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos. Oferece informações selecionadas usando critérios estritos nas ciências da saúde, gratuitamente, em inglês e espanhol.
<https://medlineplus.gov/spanish/>
- ScienceDirect: Site de acesso restrito que fornece informações científicas sobre diferentes disciplinas por meio de revistas e livros.
<https://www.sciencedirect.com/>
- Europe PMC: É uma plataforma de ciência aberta que permite o acesso a uma coleção mundial de publicações e pré-impressões de ciências da vida de fontes confiáveis em todo o mundo.
<https://europepmc.org/>

Como fontes documentais secundárias destacam-se as revistas e sociedades científicas seguintes:

- The Journal of Parasitology
- Anales de Pediatría

- Sociedade portuguesa de pediatria
- Direção-Geral da Saúde
- Revista Española de Salud Pública
- Clinical Microbiology and Infection
- Parasitology International
- Veterinary Parasitology
- Food Microbiology

Além disso, para procurar informações, também foi utilizada a ferramenta “Google Scholar”, além do manual Werner Apt. Parasitologia Humana para 2013.

Devido à grande quantidade de informações sobre toxoplasmose nas bases de dados, foram seguidos alguns critérios para a seleção dos artigos de interesse. Primeiramente, foram selecionados os documentos que continham informações detalhadas sobre a doença. Posteriormente, selecionaram-se artigos mais focados no assunto da revisão bibliográfica relacionada com a epidemiologia da toxoplasmose. Por fim, procedeu-se à procura de estudos realizados tanto em Portugal como em Espanha e a nível europeu e mundial.

3. INTRODUÇÃO

3.1. Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma zoonose de origem felina (hospedeiro definitivo), cujo agente etiológico é um protozoário chamado *Toxoplasma gondii*.

A toxoplasmose envolve duas fases: a fase aguda (que tem tratamento) e uma fase latente, com forte probabilidade de se tornar crónica. Esta doença parasitária, tem especial relevância na saúde da população em geral e, em particular na população imunodeprimida e no feto. A importância a nível do feto deve-se ao facto de poder ser transmitida verticalmente, da mãe para o feto, durante a gravidez e causar lesões significativas neste. As lesões causadas estão dependentes do estágio de desenvolvimento do embrião ou feto. É de recente consideração a sua relação direta com importantes doenças neurológicas e distúrbios neuropsiquiátricos como a epilepsia, a doença de Parkinson, a esquizofrenia e com alguns tipos de cancro (E. Tedford; G. McConkey, 2017).

3.2. *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) é um protozoário pertencente ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatidae (J.M. Úbeda; 2018).

É um coccídeo intracelular com uma distribuição cosmopolita, que afeta quase todos os animais de sangue quente (incluindo humanos) em todo o mundo.

3.2.1. Morfología

Dependendo da fase do seu ciclo, o parasita apresenta diferentes formas:

- Taquizoíto ou trofofozoíto
- Bradizoíto
- Merozoíto
- Gametócito
- Ooquisto (que contém esporozito)

3.2.1.1. Taquizoíto

O taquizoíto é, o trofozoíto propriamente dito, uma palavra que tem a sua origem no grego: *tachos* – que significa rápido e *zoito* – diminutivo de animal e que corresponde, como o nome indica, à forma de multiplicação rápida do parasita.

Os trofozoíto representam a forma de disseminação do parasita dentro do organismo do hospedeiro nos diferentes tecidos, após a ingestão de quistos ou de ooquistos.

O taquizoíto tem uma forma alongada, ovóide, semilunar, com zona anterior mais estreita e núcleo na zona posterior. Tem entre 4-7 μm de comprimento e 2-4 μm de largura. O núcleo é grande e localizado na região posterior (**Figura 1**). No extremo anterior encontra-se o complexo apical.

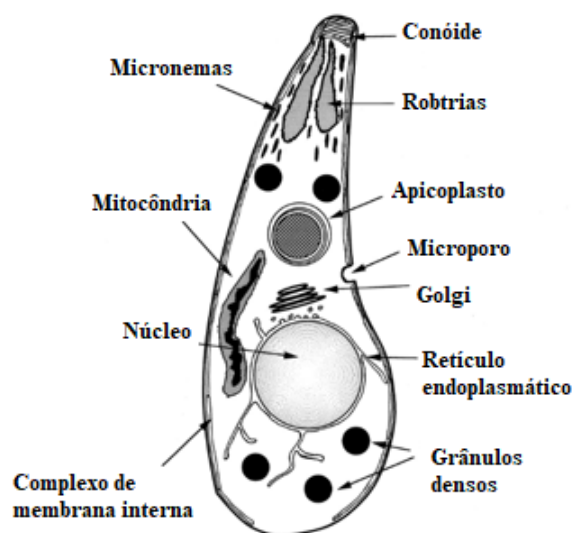


Figura 1 Representação do trofozoíto de *T. gondii* (Adaptado de M. W. Black and J. C. Boothroyd., 2010)

O complexo apical apresenta a forma de cone e engloba o conóide, bem como o apicoplasto e todo o conjunto de grânulos, robtria e micronemas que caracterizam a estrutura interna do parasita.

Cada trofozoíto possui uma camada fina (complexo de membrana interna) que cobre toda a superfície sob a membrana plasmática, onde é possível ver uma extensa linha de microtúbulos (22 no total), conhecidos como microtúbulos de subfilme, que se desenvolvem axialmente ao longo do eixo principal, formando nas suas respectivas áreas

(superior e inferior) dois anéis conhecidos, respectivamente, como polares anterior e posterior. Por sua vez, aparecem os demais elementos característicos de um organismo unicelular: mitocôndrias, retículo endoplasmático e núcleo.

Localizado no meio do citoesqueleto do corpo, existe o microporo (**Figura 2**) – perturbação única do complexo interno da membrana. Essa pequena abertura serve como ‘portal primário’ através do qual a endocitose é realizada.

(CR) Anéis preconoidais

(C) Conoide

(M) Microtúbulos apicais (2)

(PR) Anel polar

(SPM) Microtúbulos subpeliculares (22)

(IMC) Membrana interna

(MP) Microporo

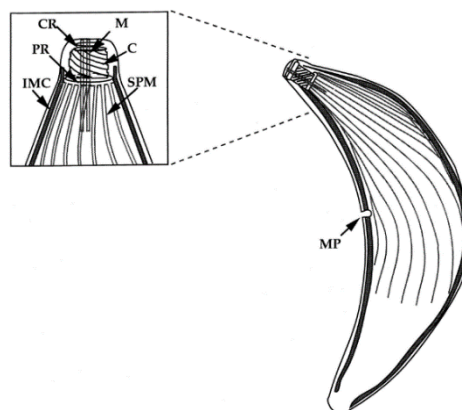
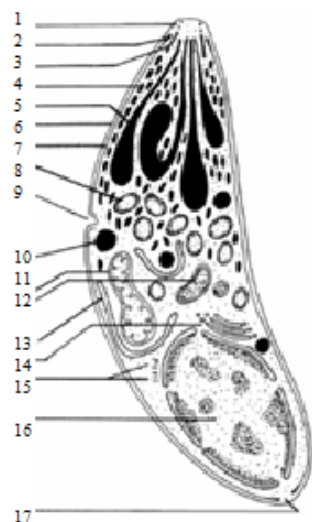


Figura 2 Citoesqueleto do trofozoito de *T. gondii* (Adaptado de M. W. Black and J. C. Boothroyd., 2010)

3.2.1.2. Bradizoíto

O bradizoíto é (uma palavra que tem a sua origem no grego *bradi* que significa lento) a estrutura que corresponde à multiplicação lenta do parasita e que se encontra dentro dos quistos da fase crônica da toxoplasmose. De estrutura semelhante ao taquizoíto (**Figura 3**), também tem uma forma crescente e um tamanho menor que $7 \times 1,5 \mu\text{m}$ (J.M. Úbeda; 2018).

Em relação aos taquizoítos, os bradizoítos apresentam o maior número de micronemas em relação às três formas e poucos grânulos densos. Os grânulos de amilopectina, por outro lado, são numerosos e longos e não apresenta corpos lipídicos.



1 Anel apical	10 Mitocôndria
2 Anel polar	11 Apicoplasto
3 Conoide	12 Complexo de Golgi
4 Micronema	13 Centríolos
5 Robtria	14 Retículo endoplasmático rugoso
6 Plasmalemma	15 Núcleo
7 Complexo de membrana interna	16 Grânulo denso
8 Microporo	17 Corpo lipídico
9 Amilopectina	18 Poro posterior

Figura 3 Estrutura do bradizoíto (Adaptado de Dubey et al, 1998)

3.2.1.3. Ooquistos

Os ooquistos representam as estruturas de resistência do *T. gondii* e são responsáveis pela sua disseminação. Dependendo do seu estado de maturação maduro ou imaturo (esporulado ou não esporulado), podem ser infecciosos ou não. **(Figura 4).**

No interior dos ooquistos maduros (forma infecciosa) estão alojados dois esporoquistos, subestruturas encapsuladas dentro das quais se encontram esporozoítos (4 por esporoquisto) **(Figura 4)**. Os esporozoítos têm uma morfologia semelhante aos taquizoítos e bradizoítos; embora com algumas diferenças.



Figura 4.. Tipos do ooquistos de *T. gondii* (Adaptado de J.M. Úbeda; 2018)

Em relação às pequenas características morfológicas que podem ser encontradas nos esporozoítos, é possível distinguir que o número de micronemas intermediários em relação às outras duas formas (taquizoítos e bradizoítos), apresenta um número elevado de grânulos densos e grânulos de amilopectina (**Figura 5**). Esta forma é a que contém maior número de corpos lipídicos.

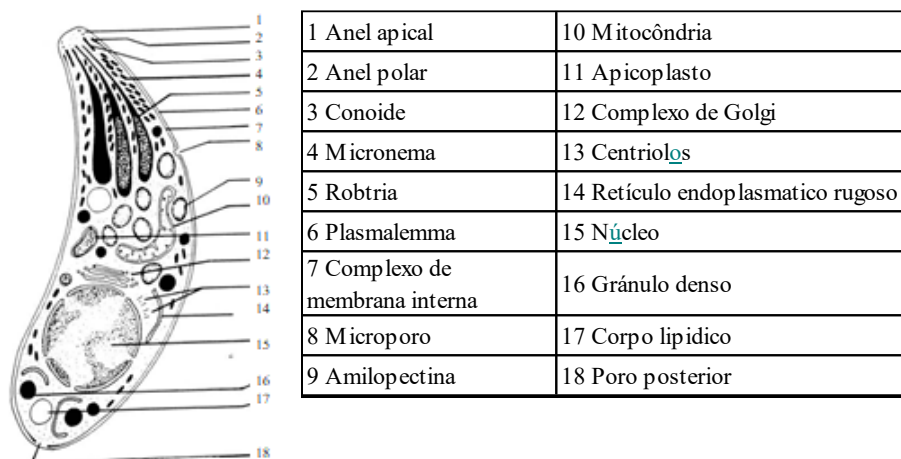


Figura 5 Estrutura do esporozito de T. gondii (Adaptado de Dubey et al, 1998)

3.2.2. Ciclo biológico e epidemiológico

T. gondii é um parasita intracelular obrigatório, com a capacidade de parasitar praticamente qualquer tipo de célula e tecido no corpo de animais de sangue quente, exceto os glóbulos vermelhos.

O ciclo vital do *T. gondii* pode se desenvolver em várias fases que diferem de acordo com o tipo de hospedeiro em que se desenvolvem; podendo ser, neste caso, de dois tipos (Dubey et al, 1998):

- **Monoxeno:** em que tanto a fase sexuada como a fase assexuada do parasita se formam hospedeiro definitivo.
- **Heteroxeno:** em que a fase sexuada ocorre no hospedeiro definitivo e a fase assexuada ocorre num hospedeiro intermediário.

Os hospedeiros comuns são os felídeos em geral, domésticos e selvagens (gatos, lincês, etc.) e que funcionam tanto como hospedeiros definitivos (local onde ocorre a reprodução sexuada do parasita) como também podem funcionar como hospedeiros intermediários (permitindo a reprodução assexuada do parasita). Todos os outros animais de sangue quente funcionam como hospedeiros intermediários (mamíferos e aves).

Considerando o alvo desta monografia, será apresentado a seguir, em forma gráfica (**Figura 6**), o ciclo misto entre hospedeiro definitivo e intermediário, isto é, um ciclo biológico completo, em que um **gato** (como representante dos felídeos) age como um **hospedeiro definitivo** e um **humano** que representa um **hospedeiro intermediário**.

3.2.2.1. Ciclo de vida do *T. gondii*

O ciclo biológico do *T. gondii* desenvolve-se em cinco fases, das quais quatro podem ser encontradas em gatos (ciclo de vida monoxenico) e apenas duas nos hospedeiros intermediários (ciclo de vida heteroxenico):

- A. Fase agamogónica
- B. Fase gametogónica
- C. Fase de esporulação
- D. Fase proliferativa
- E. Fase cística ou latente

O gato (**A**) é infetado pela ingestão de parasitas presentes em alimentos (hospedeiros intermediários) (**B**) e água (**1**). No intestino, os parasitas invadem as células epiteliais e iniciam a multiplicação assexuada por merogonia (momento em que são produzidos merozoítos e esquizontes), que constitui a chamada fase agamogónica (**2**).

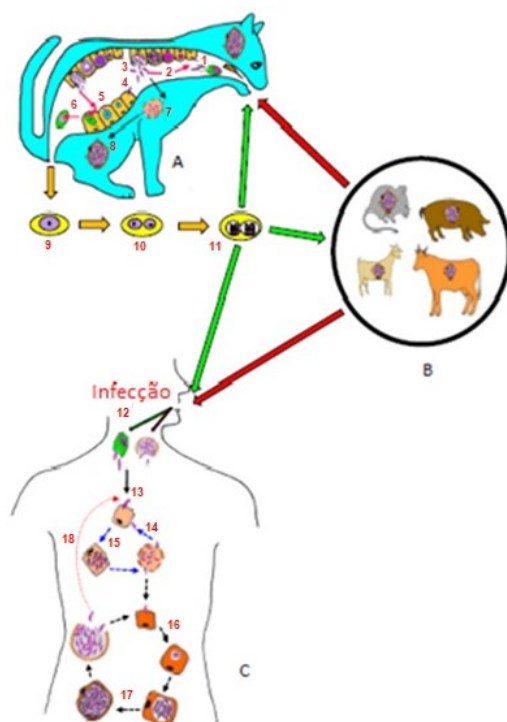


Figura 6 Ciclos biológicos monoxeno (gato) e heteroxeno (humano) do T. gondii (J.M. Úbeda 2018)

Após várias gerações de multiplicação assexuada, os parasitas que invadem novas células epiteliais evoluirão para gametas masculinos (3) e femininos (4).

Este processo constitui a chamada fase gametogónica. Após a maturação dos gametas, estes podem-se fundir (5) e dar origem ao zigoto que se protege com uma membrana resistente (6); passando, por isso, a ser chamado **ooquisto**. O ooquisto imaturo (não infeccioso) é expulso com as fezes do gato para o exterior. Para ser infeccioso, o ooquisto precisa de um tempo de maturação no ambiente (1 - 4 dias). Esse período no exterior é chamado de fase de esporulação (9, 10, 11). No exterior, a uma temperatura de 20 -22°C, a esporulação é concluída em 3 ou 4 dias, durante os quais o esporoblasto presente no ooquisto (9) dá origem a dois esporoblastos (10). Estes dois esporoblastos sofrem maturação recobrando-se com uma membrana resistente e passam a designar-se por esporoquistos. Dentro de cada um deles formam-se quatro esporozoítos (11). O ooquisto maduro (contendo dois esporoquistos, cada um contendo quatro esporozoítos) já é infeccioso para um novo hospedeiro (definitivo ou intermediário).

Quando se trata de um hospedeiro intermediário (C) (neste caso um humano), depois de ingerir (12) os ooquistos maduros (infeciosos) ou quistos de carne contaminada de hospedeiros intermediários (B), estes libertam os esporozoítos no intestino. Os esporozoítos livres penetram subsequentemente na parede intestinal e, pela via sanguínea, atingem as células dos mais diversos tecidos e órgãos (13). Depois que o parasita penetra a célula hospedeira, multiplica-se assexuadamente através de um processo conhecido como endodigiênese (Figura 7), que consiste na formação de dois trofozoítos ‘infantis’ dentro do trofozoíto ‘mãe’, que se desintegra quando os trofozoitos jovens são libertados.

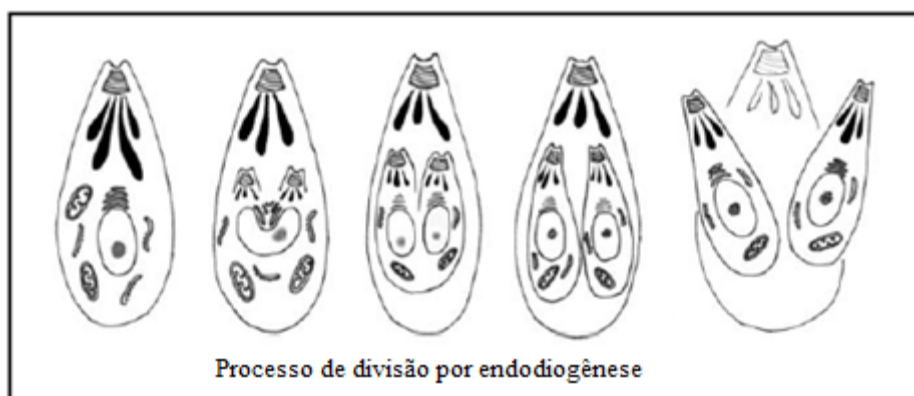


Figura 7 Processo de divisão por endodigiênese de *T. gondii* (Adaptado de J.M. Úbeda 2018)

Inicialmente, a multiplicação dos parasitas ocorre em alta velocidade (14) e, portanto, esse estágio inicial de infecção no hospedeiro intermediário é chamado de **fase proliferativa ou aguda**. Nesta parte do ciclo, os parasitas são chamados taquizoítos. A consequência de todo esse intenso processo de multiplicação é a parasitização e destruição de um grande número de células hospedeiras (15).

Gradualmente, provavelmente devido à resposta imune do hospedeiro, os parasitas que invadem novas células sofrem algumas alterações que fazem com que a multiplicação ocorra de forma mais lenta (16), levando à acumulação de muitos parasitas dentro da célula hospedeira. A membrana destas células hospedeiras com inúmeros parasitas sob a forma de bradizoítos torna-se mais espessa e resistente e passam a ser designadas de quistos (17). A esta etapa do ciclo biológico chama-se **fase cística ou latente**.

Finalmente, existe uma possível reativação da toxoplasmose em caso de imunossupressão (18)

No gato ou hospedeiro definitivo, o ciclo é fechado, quando ele ingere tecidos de um hospedeiro intermediário que contém quistos ou após a ingestão de ooquistos maduros que contaminam água ou alimentos **(1)**.

No caso dos hospedeiros intermediários só podem conter as fases proliferativa e cística do ciclo biológico, e a maneira pela qual podem ser infectados está relacionada com a dieta alimentar. Assim, os herbívoros serão infectados principalmente pela ingestão de ooquistos presentes no ambiente, enquanto que para carnívoros e onívoros (como seres humanos), as formas do parasita que podem infectá-los serão as mesmas do caso do gato: ooquistos ou quistos contendo bradizoítos presentes nos tecidos dos animais que consomem.

O Homem pode ser infectado pela ingestão de quistos através da ingestão de carne crua, curada ou mal cozida ou pela ingestão de ooquistos presentes nas caixas de areia (após manusear fezes de gatos contaminadas), nos alimentos hortícolas crus (ou não submetidos a processos térmicos) ou na água. Mais raramente, a infecção pode ocorrer através da placenta (transmissão vertical), transplantes de órgãos sólidos, células hematopoiéticas ou transfusões de sangue de pacientes infectados ou no laboratório por manipulação inadequada de material contaminado com taquizoítos, ooquistos ou quistos.

Independentemente da forma de infecção, todas essas vias levam à chegada de trofozoítos ao intestino humano, passando pela mucosa intestinal, devido a efeitos mecânicos e químicos, graças ao conóide do parasita. Uma vez atravessada a mucosa intestinal e através da circulação, podem atingir qualquer órgão ou tecido, sendo mais frequentes nos músculos estriados e no Sistema Nervoso Central (SNC) e nunca infectando células intestinais ou sanguíneas (J.M. Úbeda, 2018).

Em resumo, os estágios do ciclo de vida do *T. gondii* são:

1. Estágio de reprodução assexuada no intestino do gato
2. Estágio proliferativo (taquizoítos) no gato
3. Estágio cístico (bradizoítos) no gato
4. Estágio de reprodução sexuada
5. Estágio de esporogonia no exterior e formação de ooquistos infecciosos
6. Estágio proliferativo ou agudo (taquizoítos) no Homem (Hospedeiro intermediário)
7. Estágio cístico ou crônico (bradizoítos) no hospedeiro intermediário.

8. Estágio de reativação da toxoplasmose em caso de imunossupressão

4. PATOGENIA E PATOLOGIA

Como nos animais também nos humanos, existem muitos fatores que afetam a seroprevalência da toxoplasmose: Fatores climáticos, como humidade e temperatura, desempenham um papel importante na sobrevivência de ooquistos no ambiente e, portanto, nas taxas de infeção dos produtos hortícolas e dos animais que estão destinados à produção de carne para consumo humano. Os países com clima húmido e quente têm taxas de infeção mais altas do que os países áridos ou muito frios. O nível sociocultural, os hábitos higiénico-alimentares, a qualidade da água e o tipo de carne ou vegetais consumidos são, entre outros, fatores que também influenciam a prevalência de toxoplasmose.

A seroprevalência aumenta com a idade, mas a taxa de aquisição de infeções em relação à idade varia de acordo com o país e o nível socioeconómico (Robert-Gangneux e Dardé, 2012). A água é uma fonte importante de infeção humana principalmente em áreas onde os seres humanos usam água superficial não filtrada para consumo e provavelmente também em áreas onde há contacto com água doce, por exemplo, para fins recreativos (Bahia-Oliveira et al., 2003; Ertug et al., 2005; Jones e Dubey, 2010; Robert-Gangneux e Dardé, 2012). Logicamente, melhorias socioeconómicas, aumento do consumo de carne congelada e melhores condições de higiene contribuíram para o declínio da seroprevalência de *T. gondii* na maioria dos países industrializados

A ação patogénica do *T. gondii* é mecânica e o desenvolvimento da doença pode ser de tipo agudo (toxoplasmose aguda) ou crónico (toxoplasmose crónica).

4.1. Fase aguda

Durante a toxoplasmose aguda, ocorre uma rápida proliferação de taquizoítos em numerosas células hospedeiras, principalmente no SNC e nos músculos estriados (**Figura 8**), destruindo-as e, conseqüentemente, causando um processo inflamatório.

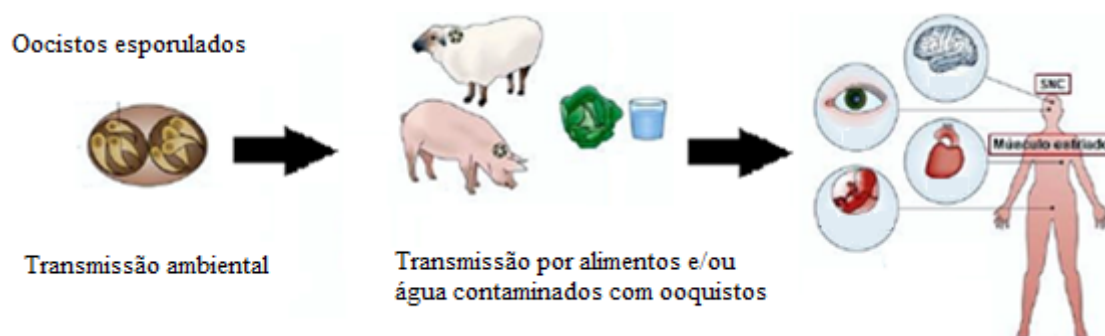


Figura 8 Danos por toxoplasmose no Homem (Adaptado de Charron AJ, Sibley LD; 2004)

Os taquizoítos encontram-se em vacúolos parasitóforos (PV), nos quais ocorre a sua replicação conduzindo à rotura da célula hospedeira, libertação dos taquizoítos que invadem as células dos tecidos próximos. Esta fase do ciclo é chamada de “Ciclo Lítico” (**Figura 9**) durante a qual o processo de replicação e ataque às células se repete continuamente, com a consequente manifestação sintomática por parte do paciente.

4.1.1. Ciclo lítico do *Toxoplasma gondii*

O ciclo lítico de *T. gondii* é dividido em 5 fases (**Figura 9**) (Michael W. Black; John C. Boothroyd; 2000)

1. **Ligação do *T. gondii* à célula hospedeira:** Uma interação de baixa afinidade é iniciada entre o trofozoito e a célula alvo (**Figura 9, fase 1**), mediada pelas proteínas de superfície do parasita SAG ("antígenos de superfície"), antígenos de superfície ancorados pelo glucosilfosfatidilinositol (GPI), SRS ("sequências relacionadas ao SAG1") e SUSA ("antígenos de superfície não relacionados ao SAG"). Demonstrou-se que o SAG1 é um ligante crucial para promover a invasão (Grimwood, J; et al; 1996). Uma vez estabelecido o primeiro contato, há um aumento de cálcio no citosol, promovendo a expulsão de micronemas; proteínas transmembranares solúveis. As proteínas transmembranares solúveis formam complexos na superfície do trofozoito que se ligam aos receptores celulares. Essas proteínas são fundamentais na união e mobilidade do trofozoito. A proteína micronema mais relevante é a MIC2. Após contacto e reconhecimento, um sinal desconhecido desencadeia o aumento de cálcio

no citosol, o que estimula a descarga dos micronemas e a extrusão do conóide; esse processo depende das proteínas cinases dependentes de cálcio (CDPK) 33. As proteínas dos micronemas de MIC (“proteínas micronemais”) contêm domínios de adesão de diferentes tipos (tipo de trombospondina, fator de crescimento epidérmico, tipo de lectina, etc.); São proteínas solúveis e transmembranares que são libertadas e formam complexos na superfície do trofozoito que se ligam aos receptores celulares, desempenhando um papel fundamental na adesão e no movimento.

2. **Invasão:** À medida que o parasita desliza sobre a superfície celular, ele reorienta a sua extremidade apical, estimulada pela exocitose de roptina (**Figura 9, fase 2**). No início do processo, as RON ("rhoptry neck proteins"), são libertadas pela primeira vez. Dessa forma, as RON2, RON4, RON5 e RON8 ligam-se a uma proteína AMA1 ("antígeno da membrana apical"), encontrada nos micronemas dos parasitas invasivos e no início do ataque, bem como naqueles que se desenvolvem intracelularmente. Uma vez formado o complexo de "montagem" das membranas do parasita e da célula invadida, o parasita move-se para dentro da célula hospedeira por ação de um motor de actina-miosina, associado à superfície. O complexo RON2 - AMA1 é essencial para a invasão, devido à sua alta resistência. À medida que o parasita penetra na célula, o VP é formado graças às proteínas: Toxofilina e RON8 que atuam no citoesqueleto de actina da célula (Baum J., et al; 2006).

3. **Transformações na célula hospedeira:** Uma vez que o trofozoito entra na célula, ele pára de se mover; o VP é fechado no seu vértice posterior (poro de fissão) e a composição proteica da membrana do VP (MVP) é determinada (**Figura 9, fase 3**). Ao invadir a célula, as proteínas transmembranares envolvidas na formação do conjunto inter-membranas são removidas (Charron AJ, Sibley LD; 2004). Imediatamente depois, as proteínas do bulbo de roptrias, ROP ("proteínas do bulbo rophtry"), são "injetadas" em pequenas vesículas que se fundem com o VP nascente no lado citosólico. As proteínas dos grânulos densos (GRA) serão libertadas após a invasão estar completa, e algumas serão inseridas no MVP. ROP e GRA modificarão o VP e a célula hospedeira, criando poros no MVP e uma rede tubulo-vesicular intravacuolar que permite a difusão bidirecional de pequenas moléculas. O trofozoito capturará alguns organitos celulares para sua subsistência e colocar a mitocôndria e o

retículo endoplasmático (ER) próximos ao seu VP (chaves na obtenção de nutrientes para o seu desenvolvimento), alimentando-se dessa maneira, já que são auxotróficos.

4. **Replicação:** Uma vez que o trofozoíto se encontra dentro da célula hospedeira e as alterações fisiológicas foram feitas para beneficiar o parasita, são iniciados diferentes ciclos de replicação até que um sinal seja recebido da célula hospedeira ou do parasita que origina a saída (**Figura 9, fase 4**).
5. **Lise celular:** Depois que o sinal é produzido, ocorre a libertação dos trofozoitos móveis, processo geralmente destrutivo no qual ocorre a lise da célula hospedeira (**Figura 9, fase 5**). Avidamente, os novos parasitas (taquizoítos), recentemente libertados, invadem as células vizinhas; início deste novo um novo ciclo de invasão e replicação.

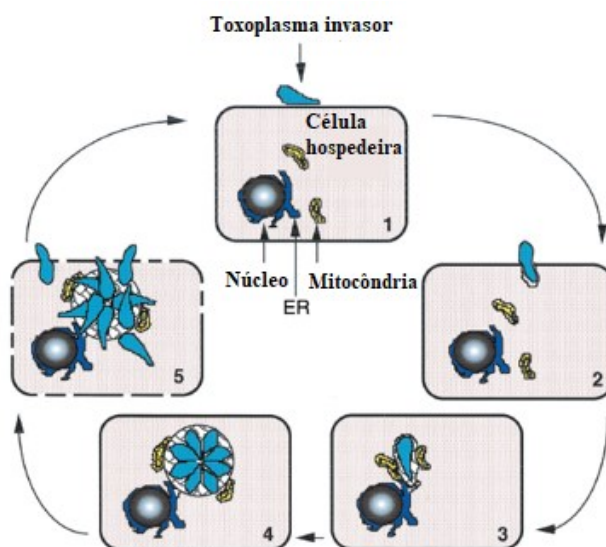


Figura 9 Ciclo lítico do T. gondii (Adaptado de Michael W. Black; John C. Boothroyd; 2000)

4.2. Fase crônica

No auge da fase aguda, os taquizoítos espalham-se freneticamente do local inicial da infecção (geralmente o intestino) para outros tecidos através do sistema linfático e da corrente sanguínea (Cerruti et al, 2020). Dessa maneira, o parasita continuará a

multiplicar-se rapidamente até que uma resposta imunitária suficiente ocorra no organismo hospedeiro e impeça drasticamente o invasor de se expandir. É a partir desse momento que a fase aguda da doença termina e a fase crónica começa.

Na toxoplasmose crónica, os taquizoítos sofrem alterações e passam à forma de bradizoítos que se dividem lentamente e formam quistos parasitários em órgãos e tecidos (fase quística). Esta fase da doença é frequentemente assintomática e não aparente, ao contrário da fase aguda. A forma bradizoíto foi erroneamente considerada na literatura como uma forma adormecida. Na realidade, os bradizoítos são mais um estágio na colonização ativa do hospedeiro pelo parasita, mas de forma lenta.

Deve-se notar que, apesar da tradicional suposição de que potenciais quistos contendo bradizoítos não causam danos ao hospedeiro imunocompetente, existem alguns estudos que defendem a teoria de que a presença de quistos no cérebro está relacionada a patologias e distúrbios neurológicos e neuropsiquiátricos como epilepsia, doença de Parkinson, esquizofrenia e até cancro (E. Tedford; G. McConkey, 2017).

Dentro dos tipos de toxoplasmose, podemos distinguir: toxoplasmose congénita e toxoplasmose adquirida.

4.3. Toxoplasmose congénita.

A toxoplasmose congénita desenvolve-se de forma assintomática em 80-90% dos casos (J.M Úbeda, 2018). A gravidade dos efeitos que a infeção causa no embrião ou no feto durante a gestação, varia de acordo com o momento da gravidez em que a mãe é contaminada com o parasita:

- Se a infeção ocorrer durante a primeira metade ou no início da gravidez, podem ocorrer abortos espontâneos devido à gravidade das lesões.
- Se a infeção ocorrer no segundo trimestre da gravidez, o recém-nascido pode apresentar sinais de sequelas conhecidas como a tríade Sabin (hidrocefalia, coriorretinite, calcificações cerebrais). Às vezes, podem apresentar uma ou duas patologias da tríade, ou podem apresentar a forma oligossintomática, cuja maior manifestação clínica é o atraso mental.
- Por outro lado, se a infeção ocorrer durante o terceiro trimestre da gravidez, o recém-nascido pode desenvolver lesões a nível do globo ocular,

hepatoesplenomegalia, cardiomegalia ou pneumonia (quadro generalizado que faz parte da síndrome de TORCH) (Nayeri T et al.,2020; J.M Úbeda, 2018).

O risco de toxoplasmose congênita, bem como a gravidade da doença, depende do período de gravidez em que a infecção é contraída, do estado imunológico da mãe, do número de parasitas e sua virulência no momento da transmissão (Nayeri T et al., 2020). Se não é tratada, o risco de infecção intra-uterina do feto aumenta durante a gravidez, ou seja, de 14% após a infecção materna primária no primeiro trimestre para aproximadamente 59% após a infecção materna primária no último trimestre (Nayeri T et al., 2020). Embora o risco de infecção aumente durante a gravidez, pois a placenta fica mais permeável, as consequências para o feto são menos graves. As consequências são mais graves se a doença ocorrer no início da gravidez do que no fim da gestação.

Um estudo recente, relaciona uma resposta inflamatória aumentada não regulada com a transmissão vertical do *T. gondii* em humanos; bem como à gravidade e disseminação congênita do parasita em recém-nascidos infetados (Gómez-Chávez F.; et al; 2020). Este estudo relaciona uma maior produção de IL-2 (Interleucina 2) e TGF- β (transforming growth factor β ou fator de crescimento transformador beta) em recém-nascidos infetados com uma infecção muito mais leve ou branda do que crianças que não produziram uma resposta a igual nível; provavelmente devido à indução de células Tregs (linfócitos T reguladores), que amorteceriam uma resposta pró-inflamatória exacerbada contra o parasita e, conseqüentemente, contribuiriam para o dano tecidual (**Figura 10**). Desta forma, o estudo destaca que, embora seja necessário produzir uma resposta pró-inflamatória para responder contra o parasita e limitar a doença na mãe, essa resposta deve ser regulada com precisão e ficar adequada.

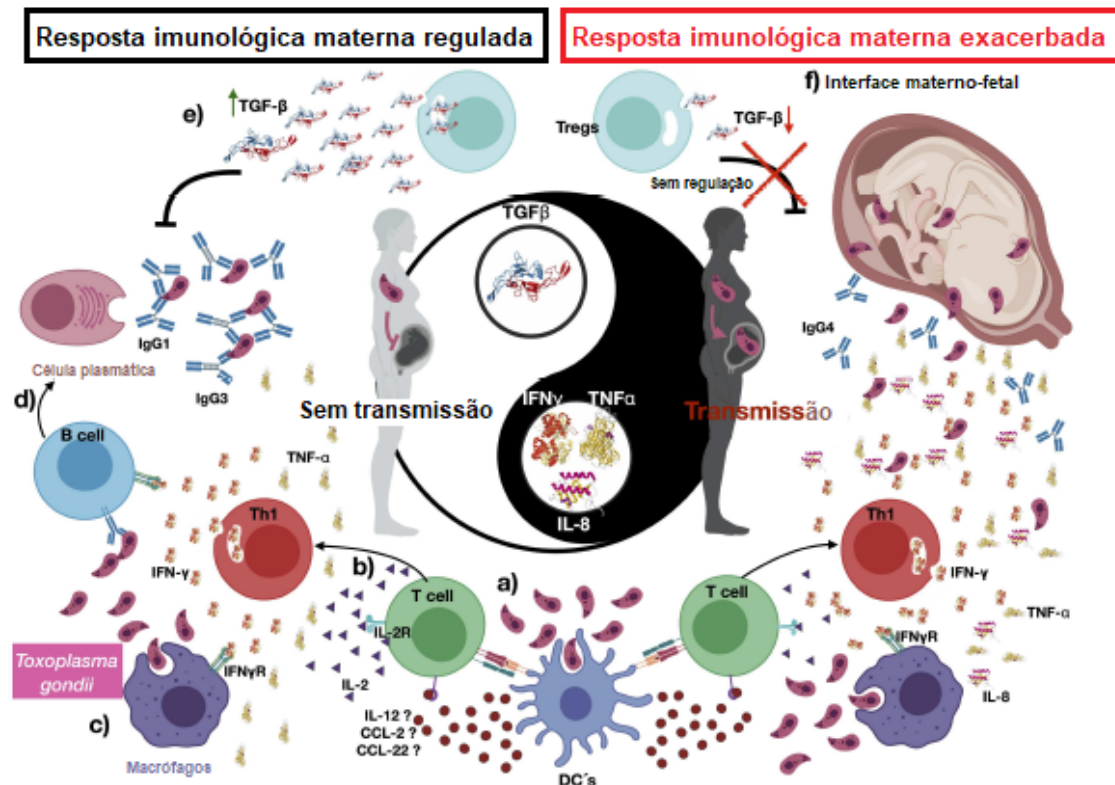


Figura 10 Resposta imunológica na transmissão congênita mãe-filho (Adaptado de Gómez-Chávez F.; et al; 2020)

Na resposta imunológica na transmissão congênita mãe-filho, uma resposta materna imunorregulada, limita a transmissão congênita do *T. gondii* (Figura 10).

- T. gondii* pode ser reconhecido por células do sistema imunológico inato de mulheres grávidas, como as células dendríticas (DC); por sua vez, as células dendríticas, podem fagocitar, processar antígenos parasitários e produzem citocinas e quimiocinas, como a interleucina 12 (IL-12), e os ligandos de quimiocina 2 e 22 (CCL-2 e CCL-22), que ativam as células T naive.
- Uma vez que as células T naive são ativadas pelo reconhecimento de antígenos de *T. gondii*, eles produzem citocinas como IL-2, interferon γ (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α).
- O desenvolvimento deste ambiente pró-inflamatório, estimula outras células do sistema imunológico, como macrófagos, que medeiam a fagocitose do parasita.
- Várias citocinas estimulam a ativação de células B e induzir mudança de classe de imunoglobulina.

- e) O estudo (Gómez-Chávez F.; et al; 2020) sugere que o fator de crescimento transformador β (TGF- β) pode ter um papel central no controle na gravidade de transmissão vertical de *T. gondii* e na disseminação da infecção congênita.
- f) A produção reduzida - ou ausência - de TGF- β relaciona-se a um perfil pró-inflamatório exacerbado, pode estar associada à transmissão vertical e ao desenvolvimento de doença grave e disseminada em recém-nascidos infectados por *T. gondii*.

4.3.1. Aborto espontâneo precoce devido a toxoplasmose

Numa infecção precoce por *T. gondii* durante a gravidez, existe o risco de aborto espontâneo. De acordo com um estudo recente (Zhuo X., et al, 2020) esta interrupção abrupta e espontânea da gravidez pode ser atribuída a três fatores:

- A. Lesão direta dos tecidos e células do feto devido à proliferação de *T. gondii*.
- B. Alteração do ambiente uterino materno precoce, afetando a implantação normal do embrião.
- C. Desenvolvimento deficiente de embriões antes e depois da implantação.

O trabalho de Zhuo indica que a infecção aguda por *T. gondii* altera a expressão dos genes Wnt (Wingless / Integrated) e a via de sinalização. As vias de sinalização Wnt são um grupo de vias de transdução de sinal que começam com proteínas que passam sinais para uma célula através de receptores de superfície celular. Esta alteração leva ao fracasso do desenvolvimento embrionário inicial, formação endometrial e decidualização (um processo que produz mudanças significativas nas células endometriais na preparação para e durante a gravidez). A infecção aguda por *T. gondii* interrompe a implantação normal do embrião e está associada à hipertensão gestacional, lúpus eritematoso sistêmico e possivelmente tumor endometrial (Zhuo X., et al, 2020).

4.4. Toxoplasmose não congênita

Quando ocorre uma infecção por *T. gondii*, o sistema imunológico do paciente desempenha um papel muito importante. Em pacientes imunocompetentes, a doença geralmente

decorre de forma assintomática. Isso ocorre porque, graças à ação do sistema imunológico do hospedeiro, é possível passar rapidamente à fase crónica e mantê-la como tal, ou seja, a doença permanece latente e os quistos permanecem no hospedeiro sem causar nenhuma reação inflamatória. Contudo isto não é sempre assim. Nos indivíduos em que o sistema imunitário possa estar debilitado, são frequentes as lesões oculares, como é o caso da retinite por toxoplasmose que é frequentemente uma causa de doença ocular grave em adultos saudáveis (M. João Gargaté, INSA, 2016)

A toxoplasmose em pessoas imunodeprimidas (SIDA, leucemias, corticoterapia, etc.) pode ser grave e comprometer a vida do paciente. Isso ocorre porque quando tem lugar uma diminuição na imunidade do paciente, uma reativação da parasitose origina-se devido à ruptura dos quistos, libertando os bradizoítos que eles contêm e invadindo novas células, onde novamente adquirem o carácter de taquizoítos, multiplicando-se agora rapidamente (JM Úbeda, 2018). Esse processo explica por que, em pessoas imunodeprimidas, a doença permanece na fase aguda, produzindo a destruição celular contínua.

A relação parasita-hospedeiro é essencial em infeções causadas por *T. gondii*. Em pessoas imunodeprimidas, mesmo as estirpes menos virulentas do parasita, podem causar lesões graves. Por outro lado, em pacientes imunocompetentes que adquirem a toxoplasmose devido à infeção por estirpes virulentas do parasita, pode ser assintomática ou causar lesões ligeiras.

No que se refere à imunidade humoral (IgG e IgM anti- *T. gondii*) os anticorpos não conseguem agir contra as formas intracelulares do parasita; atuando apenas sobre os parasitas livres (Trofozoitos livres), através da ativação do sistema do complemento. As IgA anti-*T. gondii* parecem estar relacionadas com uma diminuição da capacidade de penetração do parasita nas células do hospedeiro reduzindo assim a sua capacidade invasiva (Halonen, S. K., & Weiss, L. M., 2013).

4.4.1. Imunidade

Juntamente com a Imunidade Inata (através das células Natural Killer), a resposta imunitária do hospedeiro é complementada com a resposta Imune Adquirida, através da resposta humoral (células B) e celular (células T).

A ação dos linfócitos T é vital na resposta imunitária celular a curto e longo prazo contra a infecção aguda e crônica por *T. gondii*. Estes linfócitos T, são divididos em diferentes grupos (Miller C. M. D. et al.; 2010):

- Linfócitos T helper – linfócitos T CD4⁺ (Th). Os linfócitos Th podem ser classificados em Th1 ou Th2, em referência as citosinas produzidas
- Linfócitos citotóxicos – linfócitos T CD8⁺ (Tc)
- Linfócitos T de memória (permitem uma resposta imune rápida e forte quando exposto a um antígeno uma segunda vez)
- Linfócitos reguladores (Tregs) ou supressores.

A infecção aguda é caracterizada pela proliferação de taquizoítos que estimulam respostas muito potentes mediadas por células Th1, estimulando a liberação de IL-12 a partir de células dendríticas (Miller C. M. D. et al.; 2010; Robben PM et al 2004). Essa competência protetora mediada por essas células T é regulada em parte pela IL-12 e pela produção de interferon γ (INF- γ); citosina pró-inflamatória fundamental como principal mediador da resistência invasiva contra *T. gondii*. O IFN- γ tem um papel importante no desenvolvimento de resistência à infecção aguda, ativando macrófagos para produzir óxido nítrico (NO), que controla o crescimento intracelular do parasita (Aliberti, J; 2005). Sem a ação vital dessa citosina, a sobrevivência do hospedeiro numa infecção pelo parasita seria impossível (Vallochi, A. L et al., 2008). O mecanismo de ação é: a IL-12 estimula a ativação do STAT4 (Signal Transducer and Activator of Transcription), resultando na diferenciação das células Th0 a Th1, que juntamente com as células NK (ativadas por neutrófilos e macrófagos) produzem grandes quantidades de IFN γ (Darnell JE et al, 1994). Posteriormente, o IFN γ ativa o STAT1. As STAT são proteínas que têm a capacidade de transduzir sinais da membrana celular para o núcleo para ativar a transcrição genética. Esta tradução é obtida através das proteínas JAK (Janus Kinase), uma via de sinalização comum a muitas citocinas (**Figura 11**) (Shuai et al., 2003). Uma vez que a citosina se liga ao seu receptor específico, ela dimeriza e permite ativação subsequente de proteínas JAK específicas do receptor, que por sua vez fosforilam resíduos de tirosina na cadeia receptora, criando assim locais de ligação para os STAT. Uma vez ativados, os STAT dimerizam e sofrem translocação para o núcleo.

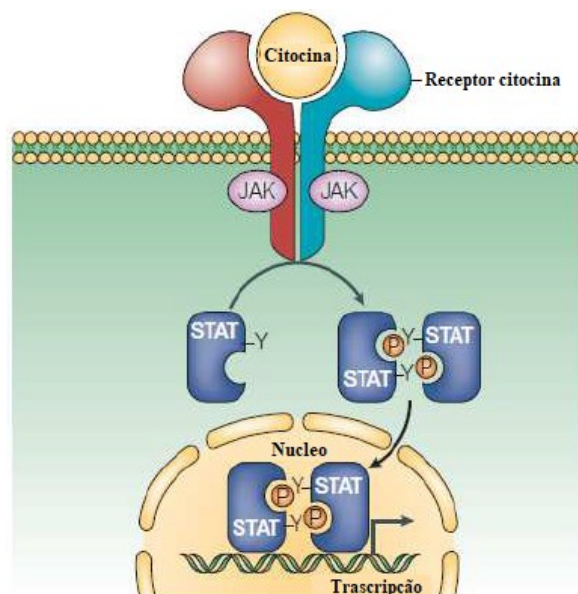


Figura 11 Representação esquemática da ativação e translocação de JAK-STAT para o núcleo. (Adaptado de Shuai et al., 2003)

Todo esse processo de transdução culmina com a expressão de uma série de proteínas efetoras como as GTPases p47, 73, 74 que ajudarão na destruição do parasita. Assim, o eixo STAT4-STAT1 é essencial para a defesa contra agentes patogênicos intracelulares como *T. gondii*.

Em relação à resposta inflamatória, destaca-se a ação da IL-10 na regularização e neutralização da mesma. A ação da IL-10 é promovida pelas células do tipo Th1 e, mantêm o imunológico do hospedeiro ativo contra a ação invasora do parasita (Jankovic, D et al 2010).

Considerando o exposto anteriormente, fica claro que, o mecanismo de proteção na toxoplasmose é formado pelas células Th e Tc com a participação de citocinas, especialmente as interleucinas IL-12, e IL-10. Isso explica porque é que em pacientes imunocompetentes, a toxoplasmose do SNC se apresenta de forma assintomática (quando o parasita passa rapidamente de taquizoíta para bradizoíta devido à ação do sistema imunológico), enquanto que em pacientes imunocomprometidos geralmente ocorre encefalite grave, às vezes fatal quando a ação expansiva do parasita não é detida (Halonen, S. K., & Weiss, L. M., 2013).

Finalmente, concluir a título de resumo mais gráfico, que tanto os linfócitos CD4⁺ como os CD8⁺, protegem o organismo contra a ação do parasita através de três mecanismos diferentes:

1. Através da produção da IL-12 e, subseqüentemente, de INF- γ envolvidos na ativação dos macrófagos (Casciotti et al. 2002).
2. Regulando a produção de citosinas e, conseqüentemente, equilibrando a resposta inflamatória (citocina antiinflamatória IL-10) (Jankovic D et al., 2007).
3. Por ação citolítica direta em taquizoítos pela CD8⁺, evitando danos colaterais em células saudáveis (Vallochi, A. L et al., 2008).

4.5. Bradizoíto, forma chave da patologia

Ao abordar o estudo do desenvolvimento da toxoplasmose, é essencial considerar que, nem nos casos de pacientes imunocompetentes e saudáveis, todos os parasitas são completamente eliminados, permanecendo no organismo. O parasita atinge esse objetivo na sua eficácia como colonizador, graças ao facto de conseguir passar de taquizoíto à sua forma de bradizoíto que fica protegido da ação do sistema imunitário dentro dos quistos. Neste estágio parasitário, em que se encontra dentro dessas estruturas de proteção, o parasita consegue prolongar com sucesso o seu ciclo de vida no hospedeiro por períodos muito longos (às vezes durante toda a vida do hospedeiro). Dessa maneira, o parasita permanece nos tecidos, principalmente no SNC e muscular, na esperança de "reativar" o que pode acontecer num momento de maior fraqueza imunológica do hospedeiro.

Sistematicamente, mesmo após uma primo-infecção, o parasita desenvolve mecanismos para escapar e manipular com sucesso à ação do sistema imunológico do hospedeiro; destacando, de uma forma sobresaliente, a secreção de proteínas que modificam programas transcricionais do hospedeiro ou suas vias de sinalização (Cerutti et al; 2020). É por isso que os taquizoítos não são completamente eliminados pelo sistema imunológico e passam com sucesso ao estágio de bradizoítos; maneira pela qual, como mencionado anteriormente, os trofozoítos conseguem escapar da ação do sistema imunológico do hospedeiro. Essa estratégia do parasita geralmente estabelece a patologia crônica no paciente.

A persistência do parasita é garantida, na forma de bradizoíto, graças a três fatores: a replicação extremamente baixa, a redução drástica da atividade metabólica e a proteção física graças ao confinamento no interior da célula hospedeira que enquistam.

A transição de taquizoíto para bradizoíto é causada e forçada por uma mudança drástica nas condições de estresse ambientais às quais o parasita está exposto e que geram uma série de alterações na expressão genética do parasita que conduzem finalmente à mudança para a forma de bradizoíto. Essas condições de estresse são:

- Aumento do pH para alcalino.
- Choque térmico
- Falta de nutrientes
- Ação de alguns medicamentos

Entre as mudanças que possibilitam a alta resistência do bradizoíto, encontra-se a sua capacidade de mudar a produção de energia mudando a respiração aeróbica para a glicólise anaeróbica. Por outro lado, sem conhecer completamente os motivos, sabe-se que os grânulos de amido se acumulam no citoplasma do bradizoíto; possivelmente como forma de alimento nos longos períodos de falta de nutrientes ou como forma de fornecer energia rapidamente devido à necessidade iminente de voltar à forma mais ativa de seu ciclo, a forma de taquizoíto, quando se verifica uma melhoria nas condições do meio para o parasita (Cerutti et al, 2020).

Juntamente com os fatores que fazem com que o bradizoíto tenha uma capacidade de resistência muito alta contra agentes externos e lhe permitam uma prevalência a longo prazo sem alterações, destaca-se a forma como passa despercebido ao sistema imunológico dentro do invólucro do quisto, razão pela qual a infecção (embora latente) se torna persistente no tempo. Esta capacidade do bradizoíto de fugir à ação de reconhecimento do sistema imunológico do hospedeiro é explicada pela ação inibitória no reconhecimento de células CD8⁺ (linfócitos T citotóxicos) das células infectadas por parasitas no sistema nervoso central (SNC). A resposta imunitária veiculada pelas células CD8⁺ específica para bradizoítos não é ativada; já que o antígeno de superfície característico do bradizoíto é modificado na célula infectada por bradizoítos; ignorando assim os sistema imunológico os quistos com bradizoítos no seu interior. Como explicação para esse fenômeno extraordinário, acredita-se que a parede do quisto tenha a capacidade de limitar o influxo de antígenos no citosol neuronal (Cerutti et al, 2020)

De qualquer forma, considerando o exposto acima e que o sistema imunológico não consegue eliminar o *T. gondii* dos tecidos durante a fase crônica há que considerar que

isso não significa que os bradizoítos não sejam localizados pelo sistema imunológico. As altas concentrações de quitina presente nas paredes dos quistos são detectadas pelos macrófagos presentes no SNC do hospedeiro, que produzem quitinase; alcançando através da sua ação a ruptura da parede do quisto e o subsequente ataque ao seu conteúdo. Por outro lado, as respostas humorais observadas em pacientes crónicos são direcionadas a proteínas específicas de bradizoítos; o que sugere que ocorrem reações que envolvem células B específicas do antígeno do bradizoíto e células T CD4 + foliculares auxiliares (Cerutti et al, 2020)

5. CLÍNICA

A toxoplasmose tem um período de incubação que varia de horas até dois dias. O período patente (o tempo em que o parasita está na fase reprodutiva) e pós-patente ou latente (período em que o parasita vive no hospedeiro após seu estágio reprodutivo) pode ser de anos ou tempo de vida do hospedeiro (JM Úbeda, 2018).

A toxoplasmose adquirida pode-se manifestar de diferentes maneiras, dependendo do órgão afetado (**Figura 12**). O mais frequente é que a origem do dano ocorra ao nível dos gânglios linfáticos, que afeta os jovens de ambos os sexos e envolve os gânglios do pescoço e a base do crânio. Quando a toxoplasmose causa dano cardíaco, geralmente ocorre taquicardia e, ocasionalmente, dor precordial devido às lesões do pericárdio. Se a doença se manifestar causando danos oculares, geralmente ocorre retinocoroidite ou iridociclite. A forma pulmonar da toxoplasmose é expressa como pneumonia intersticial, caracterizada por causar sintomas de dispnéia, febre e dificuldade respiratória no paciente. O envolvimento do SNC é raro em pessoas imunocompetentes.

As formas crónicas da toxoplasmose, geralmente, são complicações ou sequelas de processos oculares agudos, cardíacos ou relacionados com o SNC. Nos pacientes com sistema imunológico deprimido, as manifestações clínicas mais relevantes da doença são devidas à encefalite, pneumonia, coriorretinite e miocardite. A encefalite é o sinal mais importante em pacientes com toxoplasmose crónica que adquirem SIDA (J.M Úbeda, 2018).

5.1. Clínica no recém-nascido

A toxoplasmose congênita é a forma mais importante da doença, pois pode causar lesões graves no recém-nascido. Essa condição surge quando a mulher grávida sofre uma infecção primária durante a gravidez. No entanto, a transmissão do parasita da mãe para filho ocorre devido à que o parasita atravessa a barreira placentária. A transmissão transplacentária da doença pode ocorrer durante os nove meses de gestação, sendo mais frequente durante o terceiro trimestre.

A toxoplasmose congênita varia de recém-nascidos aparentemente saudáveis a situações de gravidade muito maior causada por infecções que ocorrem durante o primeiro trimestre (primeiras 14 semanas), que geralmente conduzem à morte do feto. A clínica inclui sintomas graves generalizados, entre os quais se destacam um ou vários componentes da tríade Sabin (coriorretinite, calcificações cerebrais e hidrocefalia) ou, mais frequentemente, atraso mental (**Figura 12**). (J.M Úbeda, 2018).

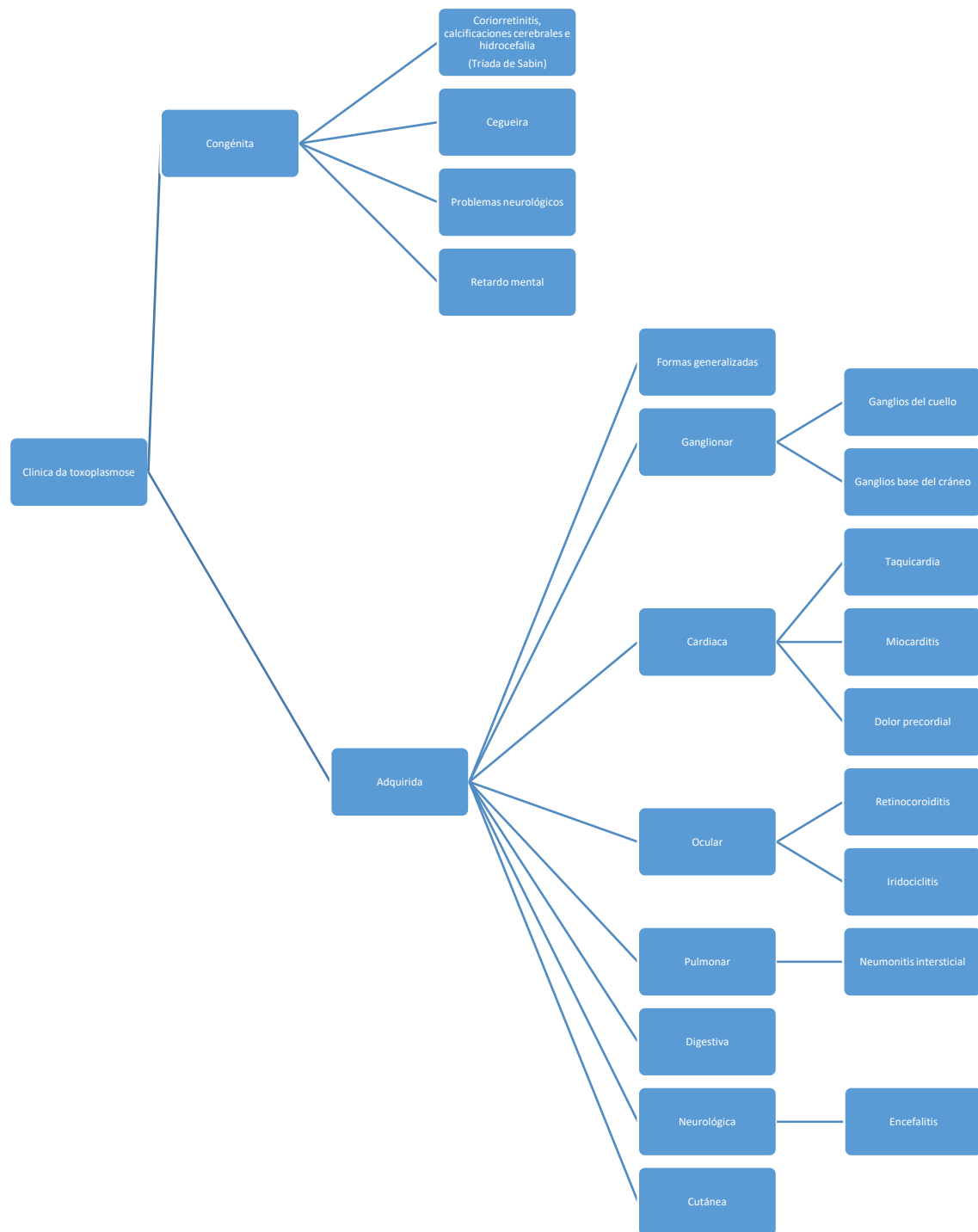


Figura 12 Manifestações clínicas da toxoplasmose em humanos (JM Úbeda, 2018)

Existem algumas diretrizes para estudos analíticos, de imagem e microbiologia que devem ser realizadas no recém-nascido seroprevalente (Baquero-Artigao F.et al; 2013):

1. Hemograma completo e bioquímica com função hepática. O teste não tem especificidade e é útil apenas para determinar o grau e a extensão da doença.

2. Fundo do olho
3. Estudo por imagem: ultrassonografia transfontanelar do cérebro ou ressonância magnética cerebral. As situações de neuroimagem mais características são as calcificações e hidrocefalia.
4. Estudo citoquímico do LCR.
5. Estudo parasitológico:
 - Obrigatório: IgM e IgG na primeira semana de vida. Se disponível, também se deve determinar o título de IgA.
 - Recomendado: PCR no sangue, LCR e urina.
 - Opcional: estudo de PCR placentário.

Apesar de que na maioria dos recém-nascidos a infecção é assintomática, estas crianças quando privadas de tratamento, podem desenvolver sintomatologia mais tarde, com recidiva de toxoplasmose ocular, que pode levar à cegueira e a problemas neurológicos. Durante a infância e adolescência podem ocorrer várias situações, nomeadamente esquizofrenia, transtorno bipolar, depressão e tentativas de suicídio.

A toxoplasmose é uma importante causa de coriorretinite nos EUA e na Europa, normalmente como consequência de uma infecção congénita. Nos EUA registam-se anualmente 750 mortes por toxoplasmose e cerca de 50% destas infecções são de origem alimentar, fazendo da toxoplasmose a terceira causa de morte por esta origem e a primeira causa de infecção por ingestão de águas contaminadas e carnes infetadas.

6. EPIDEMIOLOGIA

Nos seres humanos, as vias de transmissão da toxoplasmose por ordem de importância são as seguintes:

1. Ingestão de carne de ovinos ou suínos crua ou mal cozida, que contenha quistos nos tecidos.
2. Ingestão acidental de ooquistos maduros presentes no solo, água ou vegetais contaminados.

3. Via transplacentária (via vertical) – toxoplasmose congénita, principalmente por infeção primária e, excepcionalmente, por reativação do parasita na fase crónica da mulher grávida.
4. Transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos parasitados.
5. Acidentes no laboratório devido à inoculação acidental de material infeccioso.

6.1. Vectores zoonóticos da patologia

Nos países em desenvolvimento, a infeção geralmente ocorre devido à contaminação fecal do solo com fezes de gatos contendo ooquistos. foi demonstrado que a infeção dos felinos é mais eficiente quando o gato ingere quistos teciduais e os hospedeiros intermediários ingerem ooquistos (transmissão fecal-oral) (Dubey J., 2006).

Em contraste com os países em desenvolvimento, nos países desenvolvidos a infeção ocorre principalmente pela ingestão de carne crua (incluindo carne curada e salsichas) ou mal cozida contendo quistos, principalmente se a carne é de origem suína.

Os suínos são infetados com *T. gondii* pela ingestão de alimentos e água contaminada com ooquistos, ou quistos em tecidos animais infetados ou congénitos (Dubey e Beattie, 1988; Gauss et al., 2005). A exposição de suínos aos ooquistos de *T. gondii* ou a ingestão de roedores e aves infetados são as duas principais fontes de infeção destes animais (Dubey et al., 1995b, Weigel et al., 1995; Gauss et al., 2005). Observações epidemiológicas sugerem que os gatos são os principais responsáveis da infeção por *T. gondii* em suínos (Weigel et al., 1995; Mateus-Pinilla et al., 1999; Gauss et al., 2005), devido à excreção de ooquistos e, consequentemente, à contaminação de alimentos e/ou água. Além disso, estudos mostram que a seroprevalência para *T. gondii* é significativamente maior em quintas sem programas de controlo de roedores, que atuam como reservatório da doença e que contribuem para infetar os gatos e outros felinos em geral (Dubey J., 2006).

6.2. Situação epidemiológica em Espanha.

Considerando o estudo sobre a atualização da toxoplasmose humana (Calero Bernal. R., 2013), sabe-se que a toxoplasmose está presente em Espanha em níveis variáveis de 25% até 63%.

De acordo com os dados das principais regiões, podemos destacar as seguintes percentagens de seroprevalência por regiões (Calero Bernal. R., 2013; Sampedro et al. 2010; Gil-Tomás et al., 2011; Cebollada-Sánchez et al; 2011; Panadero-Fontán, R. et al 2009; Bartolomé Álvarez et al, 2008) representada na **Tabela 1**:

Tabela 1 Percentagens de seroprevalência em diferentes regiões espanholas (Calero Bernal. R., 2013; Sampedro et al. 2010; Gil-Tomás et al., 2011; Cebollada-Sánchez et al; 2011; Panadero-Fontán, R. et al 2009; Bartolomé Álvarez et al, 2008)

Região	Seroprevalência (%)
ANDALUZIA (Granada)	14,40
ANDALUZIA (Jaen)	49,60
ARAGÃO (Saragoça)	40,55
ASTURIAS (Gijón)	42,00
BALEARES (Palma de Maiorca)	45,00
ILHAS CANÁRIAS (Grã Canária)	63,35
CASTILHA E LEÃO (Leão)	31,00
CASTILLA LA MANCHA (Albacete)	21,00
CATALUNHA (Barcelona)	29,00
EXTREMADURA (Badajoz)	20,80
GALÍCIA (A Corunha)	46,20
A RIOJA (Logroño)	31,08
MADRID (Madrid)	11,00
PAIS BASCO (Bilbao)	35,00
VALENCIA (Valencia)	47,00

Os dados referentes a uma região muito interessante (do ponto de vista epidemiológico) devido à interação do gado entre Portugal e Espanha é a Extremadura (Badajoz), Nesta

região os valores médios de seroprevalência rondam os 17,6% (IgG), dos quais, 3,2% dos pacientes apresentavam infecções na fase aguda (IgM) (Calero Bernal, 2013) (**Figura 13**).

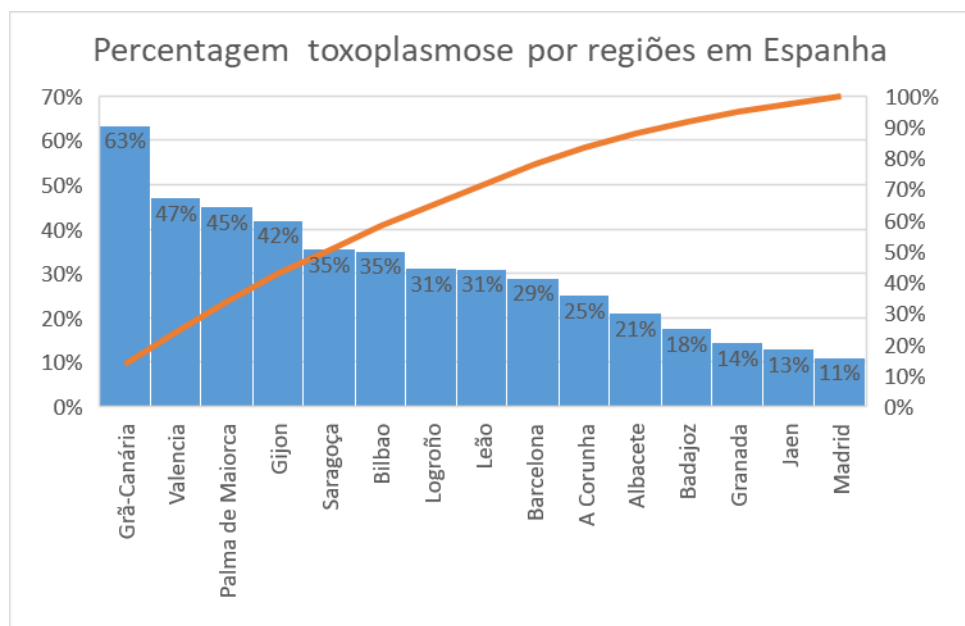


Figura 13 Diagrama de Pareto com a distribuição percentual de toxoplasmose por regiões da Espanha. Em laranja, a linha que mostra a percentagem total acumulada característica dos diagramas de pareto.

De acordo com Calero Bernal, (Calero Bernal, 2013); o Relatório de Memória da Rede de Vigilância Epidemiológica da Extremadura (SES), em pacientes com VIH, mostrou que em 2009 a toxoplasmose ocorreu em 6,20% nos homens e 3,69% nas mulheres; A taxa de mortalidade foi assumida como 45% quando a toxoplasmose era concomitante com SIDA (casos de toxoplasmose cerebral).

É importante ressaltar que, apesar dos hábitos alimentares rurais da população da Extremadura, apenas 17% da população apresentava anticorpos contra *T. gondii* (Calero Bernal, 2013). Atualmente, não existem métodos definitivos para a erradicação completa da infeção por toxoplasmose, mesmo em pacientes imunocompetentes.

6.3. Situação epidemiológica em Portugal

A informação sobre a prevalência da toxoplasmose em Portugal é escassa. No entanto, de acordo com diferentes estudos (Gargaté M. J. et al.; 2016), os dados sugerem que a prevalência desta parasitose na população tem vindo a diminuir. Os valores variaram de

47% em 1979/80 (ano em que foi realizado o primeiro inquérito serológico nacional em Portugal continental) até 22% em 2013 (CI 95%) (Gargaté M. J. et al.; 2016) (**Figura 14**).

Em estudos populacionais (Gargaté M. J. et al.; 2016), a prevalência de IgG de *T. gondii* aumenta bastante em relação à idade dos membros do estudo; Tanto na população geral como em mulheres em idade fértil em particular, essa prevalência de cerca de 18%.

Na exposição a seguir, consideraremos os dados do estudo serológico realizado em 2013 (laboratório de doenças parasitárias e fúngicas do INSA) e publicado em 2016 (Gargaté M. J. et al.; 2016). Este estudo (**Figura 14**) incluiu 1440 indivíduos de ambos os sexos, de 18 distritos de Portugal continental. No estudo, foi feita uma comparação com os dados serológicos disponíveis no primeiro estudo realizado em 1979/80 sobre a situação epidemiológica da toxoplasmose em Portugal e um segundo estudo realizado nos anos 2001/2002.

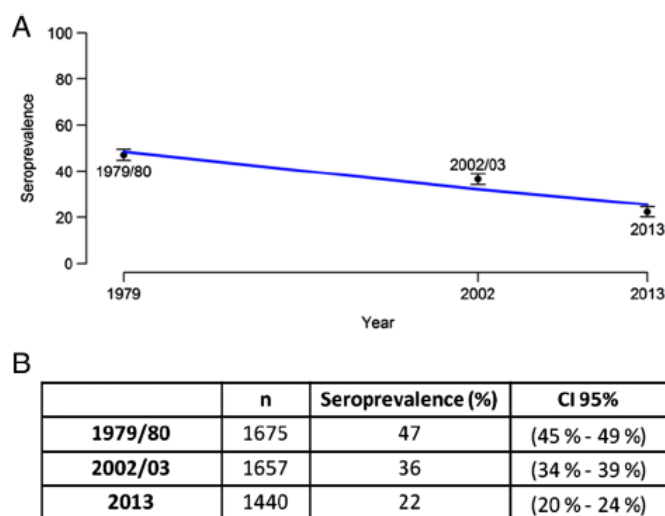


Figura 14 Seroprevalencia histórica comparativa de toxoplasmose em Portugal (Gargaté M. J. et al.; 2016)

O estudo determinou uma diminuição na seroprevalência de toxoplasmose nas últimas três décadas; visto que não havia grandes diferenças entre os distritos portugueses que foram agrupados em quatro regiões: Norte, Centro, Lisboa e Sul.

Por outro lado, o estudo revelou uma evolução interessante da seroprevalência no país. Em 1979 a situação era pior no norte do que no sul do país. E em 2013, verificou-se uma

inversão de resultados, isto é, a seroprevalência no sul praticamente duplicou face aos resultados registados no Norte do País (Norte: 13%, Sul: 33%) (**Figura 14**). Deste modo, o sul de Portugal apresentou um comportamento anómalo: foi a região com o menor percentagem de casos em 1979/1980 (43%) e no estudo de 2001/2002 (25%), e depois apresentou o maior percentagem em 2013 (33%) (**Tabela 2**).

Tabela 2 Evolução da toxoplasmose por regiões em Portugal. (Gargaté M. J. et al.; 2016)

	1979/1980		2001/2002		2013	
	N	Seroprevalência (%)	n	Seroprevalência (%)	n	Seroprevalência (%)
Norte	405	51% (46% — 56%)	426	45% (41% — 50%)	464	13% (10% — 17%)
Centro	590	47% (43% — 51%)	426	38% (33% — 42%)	344	29% (25% — 34%)
Lisboa	302	47% (41% — 52%)	630	33% (29% — 37%)	504	23% (20% — 27%)
Sul	378	43% (38% — 48%)	171	25% (19% — 32%)	128	33% (25% — 41%)

O aumento da seroprevalência na zona sul dos anos 2001/2002 até 2013 (cerca de 8%) colide com a diminuição contínua que ocorreu nas restantes regiões desde o primeiro estudo nos anos 1979/1980. Por sua vez, a má situação da região sul não é só apresentada por ser aquela que tem a maior seroprevalência (33%), mas por ser aquela que tinha menor seroprevalência em 1979/1980. É difícil encontrar uma explicação para este aumento na seroprevalência na zona sul, uma vez que as condições climáticas mais favoráveis para *T. gondii* ocorrem no norte; e os menos favoráveis (secura, alta temperatura e altitude mais baixa) ocorrem no sul.

Numa análise por idade, comparando os três estudos, as tendências de seroprevalência são observadas de acordo com as faixas etárias (**Figura 15**).

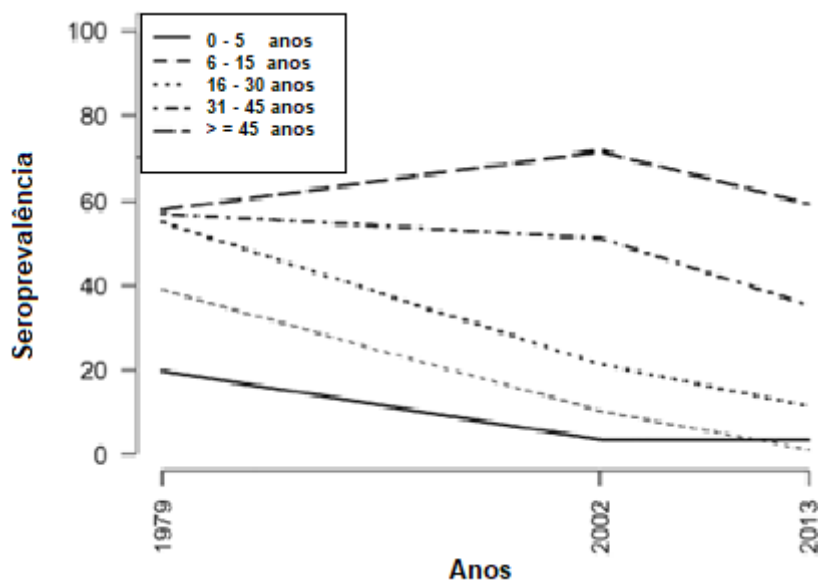


Figura 15 Seroprevalência por idade. (Gargaté M. J. et al.; 2016)

Pode-se considerar que a queda acentuada na taxa de seroprevalência por idade se deve a fatores que têm a ver com uma alteração nos hábitos alimentares que passaram a incluir muito mais alimentos e carnes processadas (eminentemente ultracongelados), onde os efeitos prejudiciais da carne mal cozida não ocorrem (quando a carne é previamente cozida ou processada inviabiliza a sobrevivência do parasita) (EFSA; 2007). Por outro lado, a legislação sanitária nacional e europeia é muito mais rigorosa em relação à gestão da cadeia de produção de alimentos, desde a origem ao consumidor final, tanto na distribuição quanto na restauração, eliminando as fontes de infecção mais comuns no passado. Outro fator para esta redução de casos é a melhoria em termos gerais de educação em termos de higiene-sanitários, bem como maior acesso a produtos e equipamentos de desinfecção.

Num estudo efetuado com mulheres férteis, numa abordagem por sexo e por idade; é mostrada uma diminuição da seroprevalência em todas as idades (**Tabela 3**). Destaca-se a menor queda na faixa etária de 39 a 45 anos. A seroprevalência mostrada pelo estudo, indica que o 80% das mulheres férteis em Portugal não são imunes à infecção por *T. gondii*. Esta situação reforça as políticas de supervisão e monitorização de mulheres grávidas em Portugal no controlo da toxoplasmose congénita. É importante realçar, como uma medida eficaz, a notificação obrigatória pelo laboratório dos resultados positivos nas análises realizadas. (Gargaté M. J. et al.; 2016).

Tabela 3 Seroprevalência de mulheres por faixa etária (Gargaté M. J. et al; 2016)

	1979	2002	2013
"15–20"	51% (41% to 60%)	19% (14% to 25%)	4% (2% to 10%)
"21–26"	56% (44% to 67%)	23% (18% to 30%)	10% (4% to 19%)
"27–32"	46% (35% to 58%)	34% (28% to 41%)	17% (10% to 28%)
"33–38"	60% (45% to 72%)	48% (40% to 56%)	32% (20% to 49%)
"39–45"	60% (47% to 72%)	62% (53% to 69%)	50% (37% to 63%)

Na ausência de uma vacina contra *T. gondii*, as medidas preventivas são a melhor proteção contra a doença para os cidadãos mais vulneráveis: pessoas imunocomprometidas e mulheres grávidas. As principais medidas são as políticas preventivas de saúde pública, como a inspeção e monitorização sanitária da cadeia alimentar; começando com o controlo veterinário de animais e instalações agroalimentares e terminando com os locais de aquisição de alimentos.

6.4. Situação atual da toxoplasmose congénita.

A toxoplasmose congénita ocorre quando a doença é transmitida ao feto durante a gravidez. A transmissão vertical ocorre quando o parasita se multiplica nas células da placenta e, eventualmente, a atravessa e invade a circulação e/ou os tecidos do feto.

A toxoplasmose congénita pode causar aborto, morte neonatal ou anomalias fetais com consequências prejudiciais para o feto (Nayeri T et al., 2020). Também pode reduzir significativamente a qualidade de vida das crianças que sobrevivem a uma infeção pré-natal.

6.4.1. Toxoplasmose congénita no mundo

A incidência de toxoplasmose congénita varia muito de país para país e até de região para região dentro do próprio país. Por exemplo, em países europeus, a prevalência varia de 9 a 67% com seroprevalências de 41% na Polónia (Nowakowska et al., 2006; Bartolomé et al., 2008), 26% em Skåne (Suécia do Sul) (Petersson et al., 2000; Bartolomé et al., 2008), 22% na Itália (De Paschale et al., 2008; Bartolomé et al., 2008), 20% na Grécia (Diza et al., 2005; Bartolomé et al., 2008) e 14% em Estocolmo (Petersson et al., 2000). No Reino Unido, os níveis de seroprevalência são cerca de 9% (Bartolomé et al., 2008). As percentagens médias atuais em Portugal são de 22% (M.João Gargaté, INSA, 2016) e em Espanha é de até um 28% (Baquero-Artigao F. et al; 2013).

Em países não pertencentes à União Europeia (UE), como Sudão e Nova Zelândia, as prevalências de toxoplasmose eram de cerca de 34,1% e 33%, respectivamente (Elnahas et al., 2003; Morris e Croxson, 2004). Prevalências mais altas foram encontradas no sul do Brasil (74,5%) e em Cuba (70,9%) (Spalding et al., 2005), Índia, Malásia e Nepal (Singh e Pandit, 2004, Akoijam et al., 2002). Nos países asiáticos, no entanto, os níveis de prevalência de toxoplasmose são bastante baixos, apresentando uma prevalência de 0,8% na Coreia e 11,2% no Vietname devido à dieta pobre de carne (Song et al., 2005; Buchy et al., 2003) (Mimica F. et al; 2015).

Em Portugal, e de acordo com o estudo de M. J Gargaté (M.João Gargaté, INSA, 2016)., a prevalencia da toxoplasmose varia atualmente de um percentagem do 35% na região sul até um percentagem do 60% no norte do país. **(M.João Gargaté, INSA, 2016).**

6.4.2. Toxoplasmose congénita em Espanha.

Em Espanha, devido às sérias consequências que a toxoplasmose congénita pode ter sobre o feto e recém-nascidos, é atualmente considerada uma doença de notificação obrigatória. Apesar da baixa prevalência da doença no país, desde 2014, o Ministério da Saúde considera obrigatório fazer de maneira sistemática testes serológicos de anticorpos de *T. gondii* em mulheres grávidas.

A seroprevalência da toxoplasmose em mulheres grávidas nos últimos anos em Espanha variou entre 11 e 28%, percentagem que varia de acordo com o território e o ano de estudo (Corripio, 2004; De Ory Manchón, 2009; Baquero-Artigao F. et al. 2013). Por esse motivo, é estabelecido um protocolo de controlo e ação sobre a doença em mulheres grávidas; sendo o médico que faz a monitorização da gravidez, o responsável pela notificação, rastreio e tratamento da toxoplasmose.

Vale ressaltar que, nos últimos anos, o perfil serológico das mulheres grávidas mudou devido ao fenómeno migratório. Desde 2000, que Espanha tem uma das maiores taxas de imigração do mundo, atingindo 12,2% em 2011 (López-Fabal e Gómez-Garcés, 2013). Uma das comunidades autónomas com maior percentagem de imigração é Madrid, apresentando até 30% de nascimentos de mães estrangeiras.

De acordo com diversos estudos, a seroprevalência da toxoplasmose em mulheres grávidas nascidas em Espanha é muito menor do que a que é verificada em mulheres

gravidas imigrantes. Somente a prevalência em mulheres nascidas em Espanha reflete as infecções adquiridas em nosso ambiente, uma vez que muitas das mulheres imigrantes vêm de países com elevada prevalência de toxoplasmose (Tenter et al., 2000; El Mansouri et al., 2007; Bartolomé et al., 2008) e muito provavelmente já terão contraído a infecção antes de emigrar para a Espanha. As mulheres estrangeiras com as maiores taxas de infecção vêm da América Latina e da Europa Oriental (**Tabela 4**).

Bartolomé et al. (2008) observaram que 16% das mulheres nascidas em Espanha tinham a doença em comparação com 51% nas mulheres nascidas fora do país. Esses dados sugerem que a maioria das grávidas imigrantes que vivem em Espanha adquiriu a infecção no seu país de origem.

Tabela 4 Seroprevalência em imigrantes grávidas com base no local de nascimento (Bartolomé et. al., 2008)

Local de nascimento	Mulheres seropositivas
América latina	94/155 (61)
Marrocos	17/41 (41%)
África subsaariana	1/5 (20%)
Europa do leste	58/123 (47%)
Europa ocidental	0/6 (0%)
China	0/4 (0%)
Não especificado	11/22 (50%)

Além disso, graças a estudos realizados por faixas etárias em diferentes regiões de Espanha, sabe-se que a prevalência de toxoplasmose aumenta com a idade. Bartolomé e col, (Bartolomé et al., 2008) observaram um aumento progressivo do número de mulheres grávidas espanholas portadoras da doença: de 8% em crianças menores de 19 anos até 29% em maiores de 40 anos (**Tabela 5**).

Tabela 5 Prevalência de IgG anti-*T. gondii* por faixa etária em mulheres grávidas (Bartolomé et al., 2008)

Idade	Tudas			Nacidas em Espanha						P*
	N	Prevalência		N	Prevalência		N	Prevalência		
		%	IC 95%		%	IC 95%		%	IC 95%	
≤ 19	94	17	10 - 26	60	8	3 - 18	31	36	19 - 55	0,003
20 - 24	273	24	19 - 29	163	10	6 - 16	98	46	36 - 56	<10 ⁻⁴
25 - 29	736	18	15 - 21	588	13	10 - 16	106	48	38 - 58	<10 ⁻⁴
30 - 34	950	19	17 - 22	842	16	13 - 19	74	58	46 - 70	<10 ⁻⁴
35 - 39	496	25	21 - 29	440	21	18 - 25	38	63	46 - 78	<10 ⁻⁴
≥ 40	74	34	23 - 46	63	29	18 - 41	9	78	nc	0,007**
Total	2623	21	19 - 22	2156	16	14 - 17	356	51	46 - 56	<10 ⁻⁴

IC: intervalo de confiança. * p: Valor de p para a diferença de prevalência entre mulheres nascidas em Espanha e imigrantes. ** Teste exato de Fischer. Mulheres nascidas em Espanha e imigrantes somam o total (N = 2.623), porque havia 111 mulheres cujo local de nascimento não estava registado.

Por outro lado, os resultados serológicos obtidos em mulheres mais jovens têm um interesse epidemiológico especial porque refletem infeções adquiridas nos anos mais recentes (**Figura 16**) (Bartolomé et al., 2008).

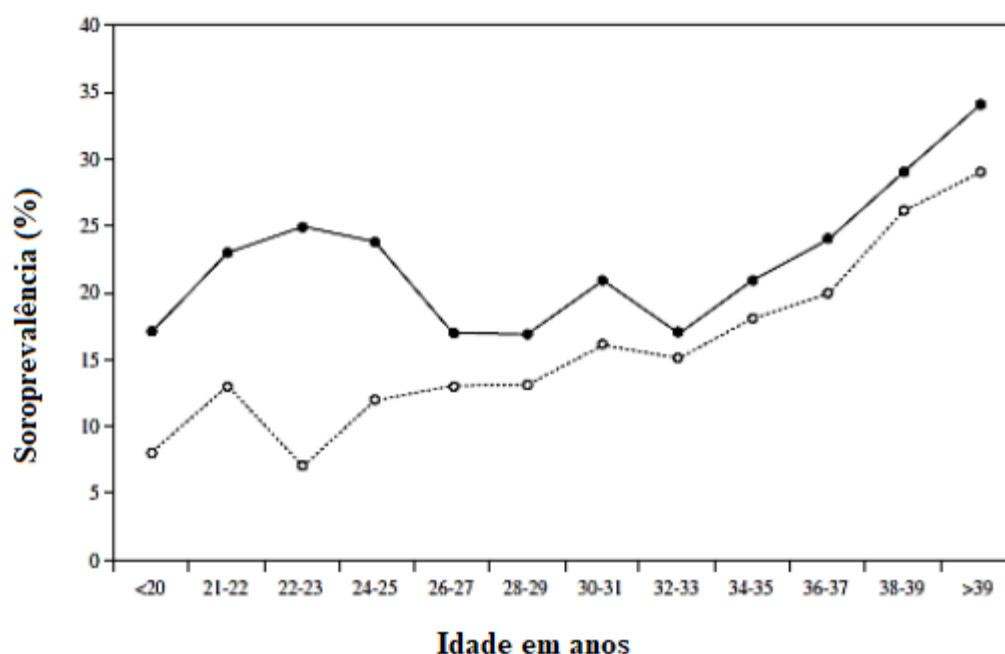


Figura 16 Soroprevalência frente a *T. gondii* em mulheres grávidas em função da idade (Bartolomé et al., 2008)

A grande diferença de seroprevalência encontrada em mulheres com menos de 26 anos é interessante porque as mulheres imigrantes correspondem a 31% das mulheres grávidas nessa faixa etária (**Figura 18**). A baixa prevalência da doença observada em mulheres mais jovens nascidas em Espanha seria mascarada se o local de nascimento dessas mulheres não fosse tido em consideração. Assim, ao fazer a monitorização da transmissão da toxoplasmose em Espanha, deve-se considerar o país de nascimento, caso contrário resultados objetivos não são obtidos (Bartolomé et al., 2008).

Por outro lado, a prevalência associada à doença é influenciada por inúmeros fatores, como a área ou o ano de estudo. Tanto em Espanha quanto no resto do mundo, existem locais com maiores seroprevalências, seja pelo *status* socioeconómico, pelas condições higiénico-sanitárias ou pela presença de outros fatores de risco. O ano de estudo também influenciará o resultado, uma vez que os níveis serológicos têm diminuído ao longo dos anos devido às melhores condições de vida e ao aumento das medidas preventivas (**Figura 17**).

Assim, como referência histórica do século passado, o primeiro estudo realizado em Jaén durante o período 1991-1993 refletiu uma prevalência de marcadores serológicos da infeção por *T. gondii* de 19,2% (**Figura 17**). Esses valores foram inferiores aos estimados de acordo com o relatório do Ministério da Saúde e Consumo, no qual foram dadas percentagens de 50% em 1993. Posteriormente, em Barcelona, em 1999, foram detectados anticorpos anti-*T.gondii* em 4.687 de 16.362 grávidas incluídas no estudo, que corresponde a 28,6% de seroprevalência, que variou, segundo as áreas da cidade, entre 20,5 e 33,1% (Batet et al., 2004), sendo esses os maiores percentuais observados (**Figura 17**). Isso ocorre porque a Catalunha é uma das comunidades autónomas de Espanha com maior incidência de toxoplasmose, seguida por outras como Extremadura, Andaluzia e Madrid.

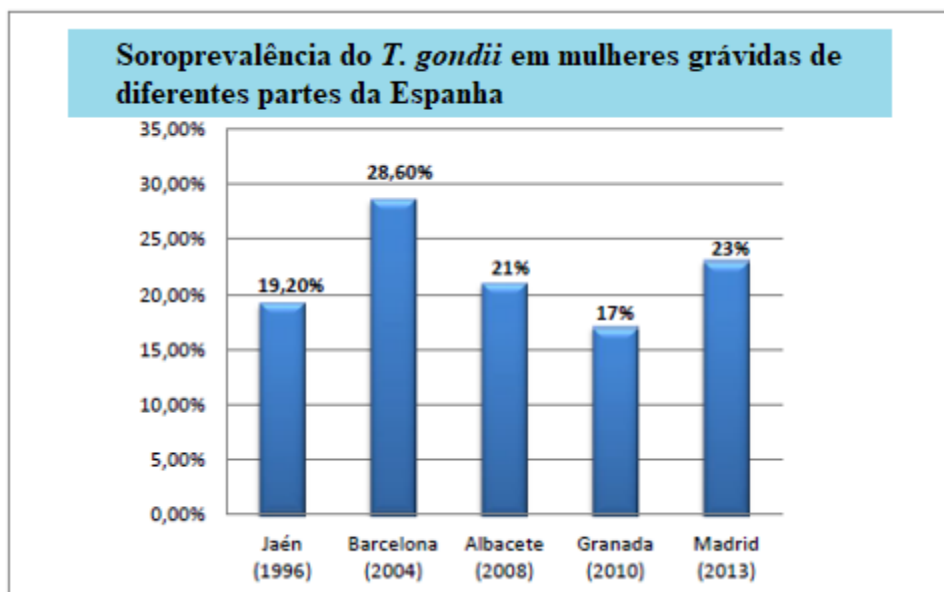


Figura 17 Soroprevalência do *T. gondii* em mulheres grávidas de diferentes partes da Espanha e em diferentes anos (López-Fabal y Gómez-Garcés, 2013).

No estudo a seguir, realizado nos anos de 2001 e 2007 em Albacete, a prevalência de IgG anti-*T. gondii*, em 2.623 mulheres incluídas no estudo, foi de 21%. A seroprevalência em mulheres nascidas em Espanha foi de 16% e em mulheres nascidas fora de Espanha foi de 51% (**Figura 18**) (Bartolome et al., 2008). A maioria das mulheres estrangeiras residentes em Albacete durante os anos de estudo veio da América Latina ou da Europa Oriental. Noutro estudo realizado entre abril de 2007 e maio de 2008 em Granada, foram obtidas prevalências de 17% no número total de mulheres estudadas. Nas mulheres grávidas locais, a prevalência foi de 14,4% e de 44% nas imigrantes (**Figura 18**) (Sampedro et al., 2010). A prevalência em mulheres de países estrangeiros foi significativamente maior em mulheres latino-americanas e no norte de África. O último estudo incluiu 8.012 mulheres grávidas que moravam em Madrid entre os anos de 2007 a 2010. A prevalência geral de anti-T IgG. *T. gondii* foi de 23,35% (**Figura 17**). Nas mulheres grávidas espanholas, essa percentagem foi de 18%, enquanto que nas mulheres grávidas estrangeiras foi de 33,8% (**Figura 18**) (López-Fabal e Gómez-Garcés, 2013). A diminuição da prevalência ao longo dos anos não pode ser observada neste gráfico,

porque os estudos foram realizados em diferentes províncias e não são sobrepostos, mas podem ser observados em cada estudo individualmente

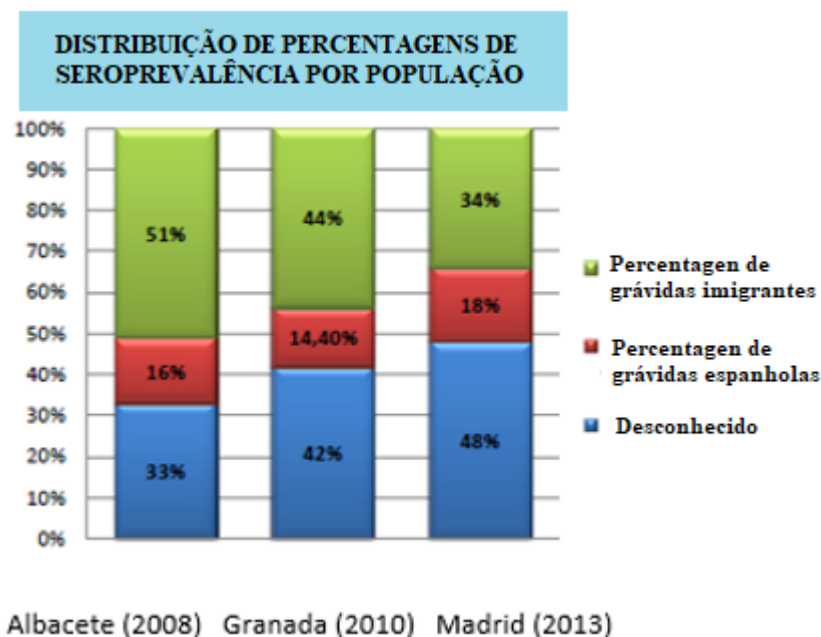


Figura 18 Distribuição das percentagens de mulheres grávidas seropositivas por população (López-Fabal y Gómez-Garcés, 2013).

No seu trabalho, (Bartolomé et al., 2008) (**Tabela6**) compararam a incidência da doença em mulheres grávidas de Madrid, Elche e Barcelona, respectivamente, com a de mulheres em idade fértil em Albacete. A incidência de infeção por *T. gondii* em mulheres em idade fértil em Albacete foi semelhante, embora um pouco menor, à encontrada por (Muñoz Batet et al. 2004) em mulheres grávidas em Barcelona.

Tabela 6 Estudos espanhóis sobre a incidência de infecção por *T. gondii* (Bartolomé et al., 2008)

Autor (ano publicação)	Local	Período estudo	Mulheres	Mulheres suscetíveis	Quantidade observada	Incidência
Cour et al (1986)	Madrid	ne	Grávidas	703	ne	5**
Rodriguez et al (1996)	Elche	ne	Grávidas	1550	ne	1,3**
Muñoz et al (2000)	Barcelona	1995 - 98	Grávidas	2145	ne	12**
Muñoz Batet et al (2004)	Barcelona	1999	Grávidas	11678	ne	1,02**
Bartolomé et al (2008)	Albacete	2001 - 07	Mulheres em idade fértil	2416	9495 mulheres 9 meses	0,5 - 0,8 +

ne: não especificado.

** Incidência por 1.000 mulheres grávidas suscetíveis. † Incidência por 1.000 mulheres - 9 meses.

Dados do Serviço de Saúde da Extremadura (SES) do Conjunto Mínimo de Dados de Alta Hospitalar, referentes aos anos de 2002 a 2006 (Calero Bernal, R; 2013) (**Figura 19**), declararam um total de 68 casos clínicos, dos quais: 10 eram Meningoencefalite, 1 Conjuntivite, 7 para coriorretinite, 41 para toxoplasmose de outros locais não especificados, 2 para toxoplasmose disseminada multissistêmica e 7 para toxoplasmose congênita.

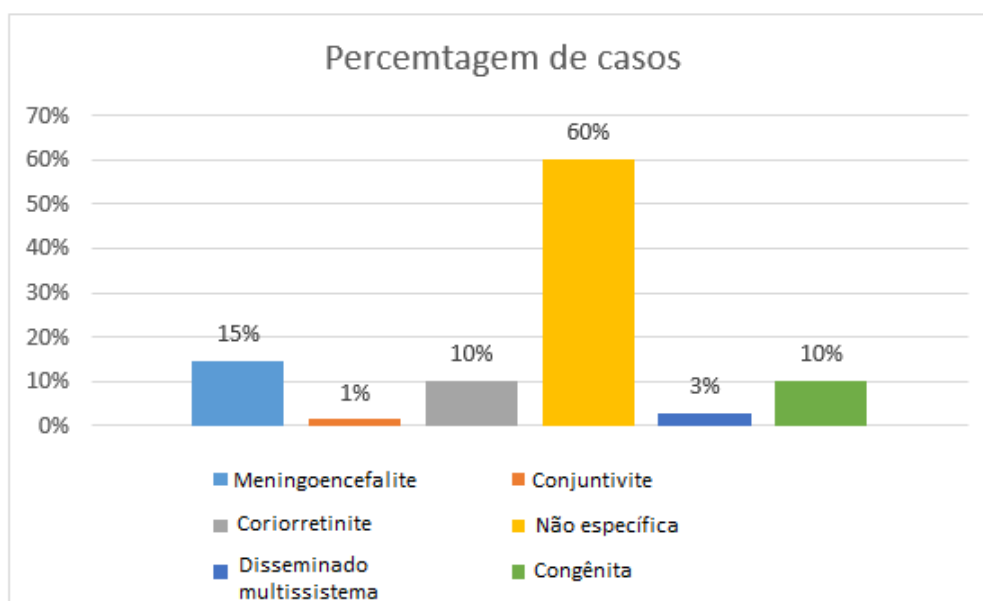


Figura 19 Percentagens de casos clínicos resultantes de toxoplasmose na Extremadura entre 2002 e 2006 (Serviço de Saúde da Extremadura)

6.4.3. Toxoplasmose congénita em Portugal

A toxoplasmose congénita é uma doença de notificação obrigatória em Portugal. De acordo com as diretrizes de 2011 da DGS, é estabelecido um protocolo de monitorização das mulheres grávidas suscetíveis (seronegativas) através de três testes (um em cada trimestre). Mas, além deste estudo serológico, é muito importante melhorar a prevenção primária. De acordo com a DGS, é, por isso importante ter conhecimento prévio do estado imunitário da mulher antes da concepção, já que contribui para uma melhor prevenção primária durante a gravidez (Horta, A., et al., 2007).

Como dado histórico, em 1984, Francisco Antunes, realizou um estudo que abrangeu 686 grávidas da região de Lisboa, no qual foi observado uma prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 64,3% (Antunes A, 1985)

Em Portugal, de acordo com a pesquisa realizada, as informações recentes disponíveis que permitam conhecer a situação actual da infeção por *T. gondii* em grávidas, são reduzidas. Em 2011 os dados de um estudo da Universidade Nova De Lisboa, no Hospital Garcia de Orta, realizado com 155 mulheres grávidas, evidenciaram que a prevalência dos anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* era de 21,94% (Sevivas T., 2011).

7. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico microbiológico da toxoplasmose representa uma grande dificuldade para o analista encarregado da sua determinação.

As principais técnicas utilizadas na determinação de uma infecção por *T. gondii* são (Barquero-Artigao et al.; 2013):

- Técnicas moleculares: PCR
- Técnicas de Isolamento: Culturas celulares e Inoculação em cobais (ratinhos)
- Técnicas histológicas: Coloração, IFD, imuno-histoquímica, microscopia eletrónica.
- Técnicas serológicas: Determinação de anticorpos IgG e da sua avidéz, IgM, IgA e IgE

Todos os métodos analíticos para o diagnóstico de *T. gondii* estão agrupados em duas categorias: métodos diretos e indiretos. Os métodos indiretos são os mais utilizados e quando dão um resultado positivo, são conjugados com exames diretos. É por esse motivo que os dois tipos de métodos são habitualmente usados em conjunto no esclarecimento da doença e da sua fase ou estado (na fase aguda ou na fase ativa da toxoplasmose crónica).

7.1. Métodos diretos

Os métodos diretos tradicionais consistem numa série de técnicas de determinação direta da existência de formas, restos ou derivados do parasita numa amostra, destacando-se tradicionalmente os métodos de visualização ao microscópio ótico. Hoje em dia, os métodos de visualização, são métodos em desuso devido ao seu baixo desempenho, pois requer pessoal altamente qualificado. Atualmente, existem técnicas moleculares e de isolamento do agente infeccioso no hospedeiro (animal de laboratório) que vão além da simples observação do microrganismo patogénico sob um microscópio (**Tabela 7**).

7.1.1. Técnicas moleculares: Reação em Cadeia da Polimerase.

A deteção do *T. gondii* em material obtido por punção (linfadenopatia), biópsias ou necrópsias pode ser realizada por técnicas que utilizam anticorpos mono ou policlonais marcados com fluoresceína ou por técnicas de PCR (convencionais ou em tempo real)

que utilizam diferentes sequências para amplificação e métodos do tratamento da amostra (Okubo et al., 2010). Estima-se que a especificidade e o valor preditivo positivo (VPP) da técnica de PCR convencional sejam próximos de 99-100% (máximo durante o primeiro trimestre) e com uma sensibilidade de 65-92% entre as 17 e 21 semanas de gestação (Barquero-Artigão et al.; 2013).

7.1.2. Técnicas de isolamento do parasita

O isolamento do parasita é realizado em animais não infectados, geralmente ratos, ou em culturas de células. Essas técnicas consistem na inoculação de material fresco obtido por punção dos gânglios no peritoneu do rato. Se o material inoculado possui parasitas, as cobaias inoculadas desenvolvem a doença podendo nalguns casos até morrer quando as estirpes são mais virulentas, (Remington et al., 2004).

As técnicas de isolamento parasitário são utilizadas para confirmação e diagnóstico de referência, uma vez que o VPN (Valor preditivo negativo) pode variar bastante, dependendo da qualidade da amostra, sua conservação, carga parasitária presente e virulência do parasita (Barquero-Artigão et al.; 2013).

Tabela 7 Métodos diretos de diagnóstico (Barquero - Artigão et al; 2013)

Diagnóstico	Técnica	Amostras	Deteção	Diagnóstico grávida	Diagnóstico do recém-nascido	Comentário
Molecular	PCR	LA, LCR, sangue, urina, placenta, tecidos e amostras de olhos.	ADN do <i>T. Gondii</i>	LA tomada > 18 semanas de gestação. E 99-100%, S 60-80%. Valor limitado no sangue devido a parasitemia curta. Pouco usado.	Sangue, LCR e urina. Útil, mas com S variável. É uma técnica complementar à sorologia	Detecta parasitas vivos e mortos
Isolamento	Cultivos celulares	Semelhante ao PCR	Trofozoitos intra e extracelulares	Pouco usado	Pouco usado	Específico. S inferior ao S da PCR e da inoculação. Detecta parasitas vivos. Resultado: 3 a 30 dias.
	Inoculação em ratos	Semelhante ao PCR	Semelhante as culturas	Principalmente em LA	Aplicações semelhantes ao PCR	Específica. Sensibilidade próxima à da PCR, maior que a cultura. Detecta parasitas vivos. Resultados: 4 - 5 semanas
Histológico	Coloração, IFD, imunohistoquímica, microscopia eletrônica	Placenta, tecidos fetais	Trofozoitos e cistos	No estudo patológico de lesões ou amostras	No estudo patológico de lesões ou amostras	Rápido, mas pouco sensível
Ac: Anticorpos	E: Especificidade	S: Sensibilidade	Ig: Imunoglobulina	LA: Líquido amniótico	LCR: Líquido cefalorraquidiano	RN: recém-nascido

7.2. Métodos indiretos

Os métodos imunológicos ou serológicos indiretos são baseados na detecção de anticorpos produzidos pelo hospedeiro contra o parasita. São os principais métodos de diagnóstico na pesquisa de *T. gondii*. Entre os mais utilizados, atualmente está o teste de Sabin e Feldman (SF), por ser um método específico e altamente sensível. Em pacientes imunocompetentes é usada a PCR (de sangue e LCR) e os testes de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA; também úteis para a detecção de antígenos de *T. gondii*. Outros métodos utilizados para o diagnóstico serológico da toxoplasmose são a aglutinação e a hemaglutinação indireta (Barquero-Artigao et al. 2013).

No caso de toxoplasmose congênita, é realizada a detecção de IgM ou IgA anti-*T. gondii* em recém-nascidos. Se o teste for positivo em relação à presença dessas imunoglobulinas, a presença de parasitose é confirmada, uma vez que essas imunoglobulinas não atravessam a placenta. O título da IgM atinge um platô após um mês, enquanto o título da IgG atinge um platô após 2-3 meses na ausência de tratamento. Uma PCR no sangue do cordão umbilical e no líquido amniótico permite que o diagnóstico seja confirmado (JM Úbeda, 2018) (**Figura 20**).

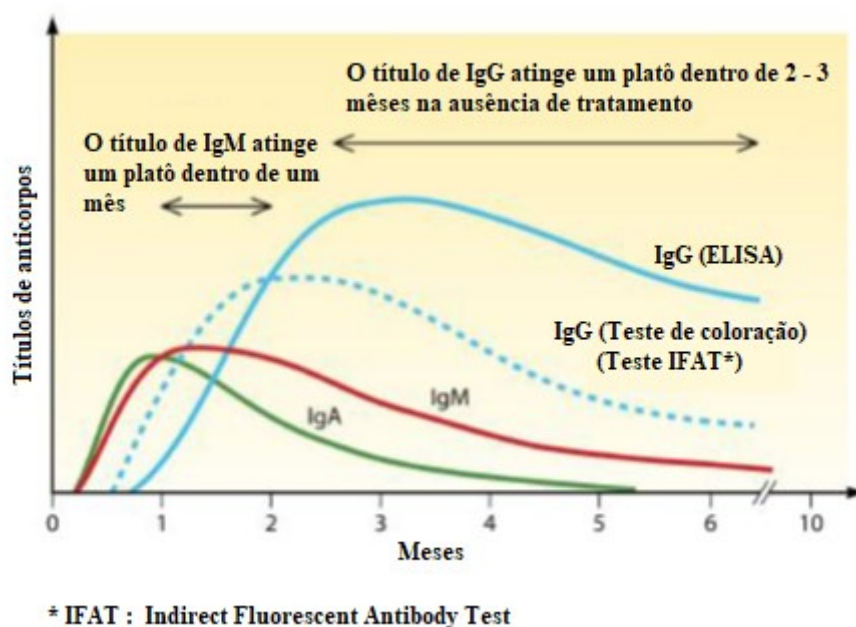


Figura 20 Detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em recém-nascidos por métodos indiretos (ELISA) (Robert-Gangneux y Dardé, 2012)

Em pacientes imunodeprimidos, incluindo pacientes com SIDA, geralmente não são utilizados testes de diagnóstico relacionados à presença de imunoglobulinas (serológicos), pois a sua presença geralmente é muito baixa. Nesse caso, o teste que é usado é a PCR de sangue ou LCR (J.M. Úbeda, 2018).

Por outro lado, a detecção precoce de toxoplasmose na gravidez é de extrema importância; pelo que deve ser realizado o mais rápido possível, a fim de descartar uma infecção e estabelecer medidas preventivas destinadas a evitar a infecção. Para isso, é realizado um protocolo de diagnóstico serológico de toxoplasmose em mulheres grávidas (**Figura 21**).

Quatro hipóteses diferentes podem ser levantadas:

- A. **IgG e IgM negativo:** não há evidência de infecção por *T. gondii*. Nesse caso, serão estabelecidas medidas profiláticas para evitar a contração da doença e um diagnóstico trimestral até o parto ser recomendado.
- B. **IgG negativo e IgM positivo:** existe uma alta probabilidade de infecção recente. O teste geralmente é repetido após duas semanas para garantir se há uma infecção aguda, já que em alguns casos não é um período o suficiente longo para os títulos de IgG apresentarem resultados positivos.
- C. **IgG positiva e IgM negativa:** nesse caso, a mulher grávida terá imunidade contra *T. gondii*, pois a infecção foi contraída há mais de um ano. O corpo da mulher grávida possui anticorpos específicos contra a toxoplasmose.
- D. **IgG e IgM positivas:** quando a IgG e a IgM são positivos, a avidéz de IgG é geralmente medida, ou seja, a força da ligação de IgG a antígenos polivalentes é medida. Quando a avidéz da IgG é alta, significa que a doença foi adquirida há mais de 4 meses, portanto, está na fase crônica e os anticorpos têm uma alta afinidade pelos antígenos do *T. gondii*. Pelo contrário, se a avidéz é fraca, entende-se que a infecção está na fase aguda. Se se obtiverem valores de avidéz de IgG baixos, o teste é repetido após 2-3 semanas e se os níveis permanecerem inalterados, a infecção aguda é descartada. Se após 2-3 semanas de espera os valores aumentarem, considera-se que a doença continua a progredir devido a uma infecção recente (**Figura 21**).

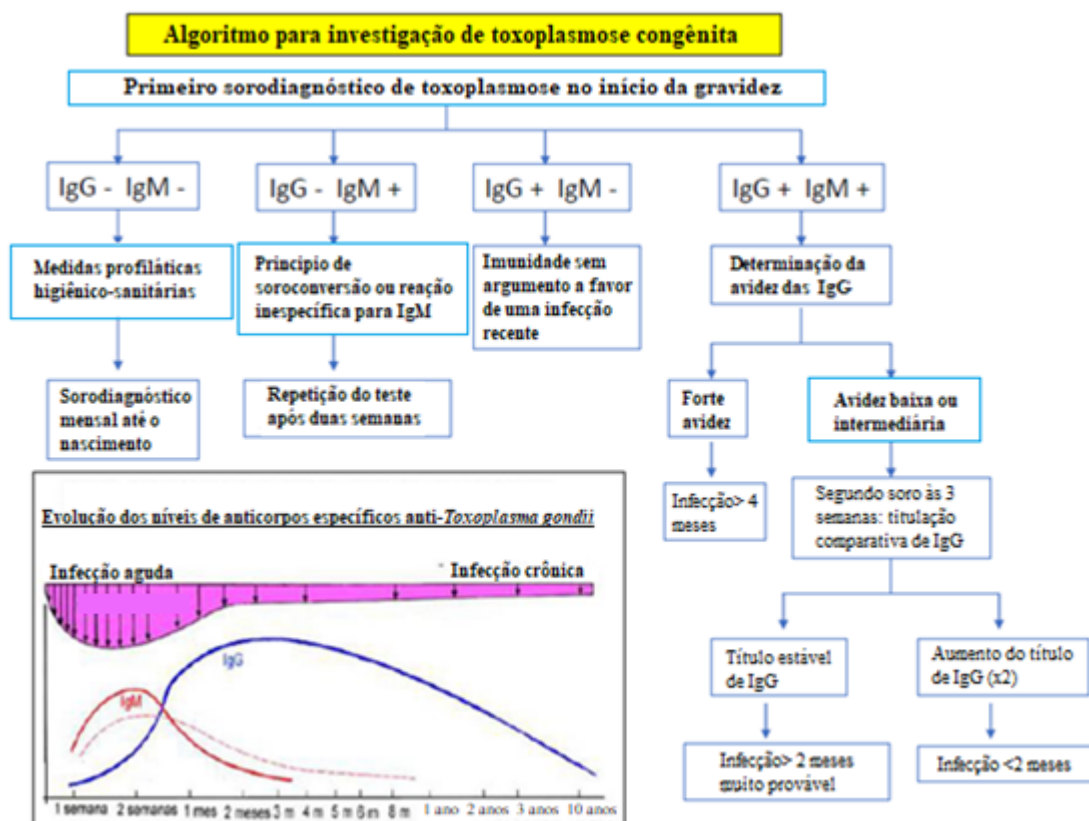


Figura 21 Algoritmo sorológico em mulheres grávidas (Adaptada de J.M. Úbeda, 2018)

7.3. Diagnóstico em mulheres grávidas.

Apesar da toxoplasmose ser geralmente assintomática em gestações imunocompetentes, pode ocorrer um quadro leve de linfadenopatia generalizada, mal-estar e febre baixa; facto pelo qual a triagem gestacional é realizada por protocolo. A partir das 18 semanas de gravidez e após 4 semanas de contágio estimado, deverá ser efetuada uma colheita de amostra de líquido amniótico (muito mais sensível que sangue, LCR ou urina).

Essa triagem, embora geralmente aplicada na prática, não conta com o apoio das sociedades ginecológicas e obstétricas espanholas e portuguesas.

7.4. Diagnóstico de infecção no feto

Graças a um estudo que incluiu 26 coortes na revisão de 1.438 mães tratadas identificadas pela triagem pré-natal (Thiébaud R, et al, 2007), foi determinado que a probabilidade de infecção fetal (soroconversão) é diretamente proporcional ao trimestre em que a infecção

materna ocorre mas reduz o risco de lesões intracranianas. Acontece exatamente o oposto com a gravidade das lesões produzidas, de modo que quanto mais precoce a infecção durante a gravidez, maior o risco de gravidade das lesões (Barrios, Patricia et al, 2016) (Baquero-Artigao F. et al; 2013) (Thiébaud R, et al, 2007).

A situação é resumida na **Tabela 8**:

Tabela 8 Risco de envolvimento fetal (Barrios, Patricia et al, 2016)

Relação do risco - envolvimento fetal com o estágio gestacional em que a infecção ocorre			
Estágio gestacional	% transmissão vertical	% envolvimento fetal	Grau de lesão
< 6 semanas	1%	80%	Alto risco de produzir abortos extremamente graves e lesões cerebrais ou oculares graves
< 14 semanas	< 10%	60%	Grave. Lesões cerebrais e oculares
14 - 28 semanas	15 - 55%	25%	Não grave. Possíveis lesões oculares
> 28 semanas	55-80%	15%	Não grave. Apenas possíveis lesões oculares
> 40 semanas	> 80%	< 5%	Baixa probabilidade de afetação

7.5. Diagnóstico de lesões fetais

Quando a suspeita é confirmada pelo diagnóstico de infecção durante a gravidez, é necessário proceder à monitorização ultrassonográfica dada a correlação entre a gravidade das lesões e o prognóstico neonatal.

Entre as anomalias mais frequentemente detectadas pela ultrassonografia, destacam-se os nódulos ventriculomegálicos e hipocogénicos representados pelas calcificações intracranianas. Especificamente, essas calcificações intracranianas podem aumentar o risco de coriorretinite e (as de maior gravidade) podem mesmo levar à destruição do parênquima cerebral (Malingier G. et al; 2011).

As manifestações extracranianas são de menor incidência e as que se podem encontrar mais frequentemente são: ascites, hidropisia, hepatoesplenomegalia, calcificações intra-hepáticas e espessamento da placenta.

Em situações de diagnóstico positivo de seroconversão na mãe (embora com PCR negativo no líquido amniótico), é realizada uma ecografia mensal da mulher grávida como

método de verificação de um possível falso negativo na PCR. Quando são encontradas anomalias graves na ecografia durante o primeiro trimestre, é recomendada a interrupção da gravidez. Por outro lado, nos casos em que há um resultado positivo no líquido amniótico, o acompanhamento por ecografia deve ser realizado juntamente com neurosonografia mensal mais uma ressonância magnética intracraniana (após 30 semanas de gravidez e sempre feita por especialistas com vasta experiência). Felizmente, um líquido amniótico positivo não indica necessariamente envolvimento fetal.

8. TRATAMENTO

O tratamento da toxoplasmose é realizado principalmente através de antimicrobianos inibidores da Di-hidrofolato redutase (DHFR) e da Di-hidropteroato sintetase que bloqueiam a síntese de ácido fólico. As moléculas importantes que têm sido usadas para esse fim, evoluíram ao longo do século XX até os dias de hoje (**Figura 22**). Atualmente, sabe-se que esses tratamentos são eficazes exclusivamente contra taquizoítos não apresentando qualquer eficácia no controle ou eliminação dos bradizoítos presentes nos quistos.

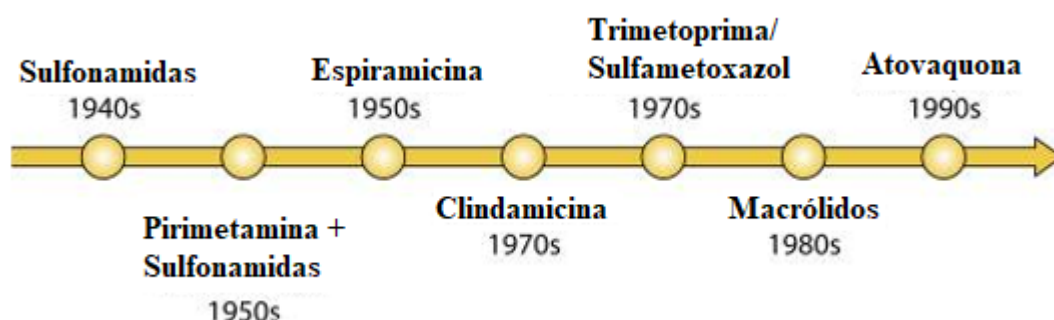


Figura 22 História dos tratamentos contra o *T. gondii* (Adaptada de Dunay IR, et al; 2018)

Em relação aos inibidores da DHFR, os medicamentos de escolha são a Pirimetamina e o Trimetoprim; sendo a Pirimetamina o medicamento mais eficaz no combate contra a toxoplasmose. Por outro lado, os fármacos de escolha para a inibição da Di-hidropteroato sintetase, são as sulfamidas (sulfadiazina, sulfametoxazol e sulfadoxina) destacando principalmente a sulfadiazina. Assim, e como estratégia para o tratamento de ambas as

vias, destaca-se como tratamento “gold standard” em humanos, a combinação de pirimetamina - sulfadiazina (pir - sulf). Outras combinações eficazes são a pirimetamina com Clindamicina, Atovaquona, Claritromicina ou Azitromicina.

Regimes de tratamento alternativos incluem: cotrimoxazol, a combinação de trimetoprim e sulfametoxazol; e Atovaquona isoladamente ou em combinação com Sulfametoxazol. Todos esses medicamentos funcionam como inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo de *T. gondii*, como a DHFR, Desidrogenases (NADH), Cisteína proteasas e Di-hidropteorato sintetases (**Figura 23**)

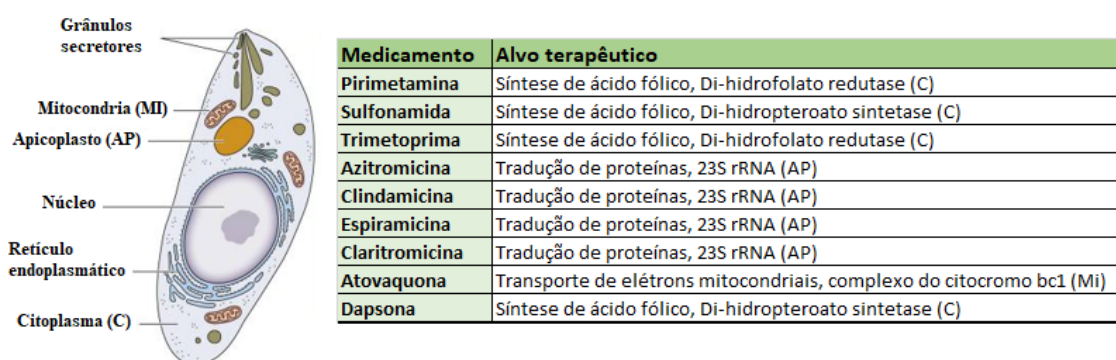


Figura 23 Alvos terapêuticos dos medicamentos contra T. gondii (Adaptada de Dunay IR, et al; 2018)

8.1. Tratamento em imunocompetentes e mulheres não grávidas.

O tratamento da doença está atualmente drasticamente limitado à fase ativa (aguda) da doença, representada principalmente pelos taquizoítos. No caso da fase latente, na qual os taquizoítos já deram origem aos bradizoítos que se encontram encapsulados em quistos nos tecidos, não há terapias de eficácia comprovada.

Os tratamentos descritos abaixo (**Tabela 9**) são os prescritos para pacientes imunocompetentes com sintomas graves ou persistentes e em acidentes após a aquisição da infecção em laboratório.

Tabela 9 Tratamento utilizado nos imunocompetentes (adaptada de Dunay. I. R; et al; 2018)

Fármaco	Regime	Comentários
Pirimetamina + Sulfadiazina + Ácido folínico	Pirimetamina: 100 mg/dia durante 1 ou 2 dia e mais tarde 25–50 mg/dia + Sulfadiazina: 1g/6 h. + Ácido folínico: 10–20 mg/dia	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitorizadas regularmente. Deve ser assegurada uma hidratação adequada para evitar danos renais por cristalúria
Pirimetamina + Ácido folínico + Clindamicina	Pirimetamina: 100 mg/dia durante 1 ou 2 dia e mais tarde 25–50 mg/dia + Sulfadiazina: 1g/6 h. + Ácido folínico: 10–20 mg/dia + Clindamicina: 300 mg /6h	As contagens sanguíneas devem ser monitoradas regularmente A clindamicina pode causar diarreia, incluindo infeção por <i>Clostridium difficile</i>
Trimethoprima-Sulfamethoxazol (TMP-SMX)	5/25–10/50 mg/kg/dia em doses divididas	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitorizadas regularmente Deve-se garantir uma hidratação adequada para evitar danos renais por cristalúria
Atovaquone + Pirimetamina + Ácido folínico	(1,500 mg duas vezes por dia) + 5/25–10/50 mg/kg/dia em doses divididas	Contagens sanguíneas e função hepática devem ser monitoradas regularmente Atovaquona deve ser tomada com uma dieta rica em gordura
Pirimetamina + Ácido folínico + Azitromicina	5/25–10/50 mg/kg/dia em doses divididas + 250–500 mg diariamente. Uma dose mais alta de azitromicina (1.000 mg) deve ser considerada para doença sistêmica não-ocular grave.	As contagens sanguíneas devem ser monitoradas regularmente A azitromicina pode causar problemas auditivos e um intervalo QT prolongado

8.2. Tratamento na Toxoplasmose ocular.

- **Pacientes imunocompetentes e não grávidas.**

A toxoplasmose ocular (TO) pode ocorrer em pacientes imunocompetentes (**Tabela 10**) e geralmente apresenta-se como uveíte posterior. A sua origem pode ser congénita (pode se manifestar durante varios anos) ou adquirida (pode se manifestar durante meses). A TO excede uma recorrência de 50%, independentemente dos tratamentos aplicados na fase aguda e assumindo uma séria ameaça para a visão (Holland. G.N.; et al; 2002).

Tabela 10 Tratamento da toxoplasmose em imunocompetentes (Dunay I.R.; et al 2018)

Fármaco	Regime	Comentários
Clindamicina intravítreal + Dexametasona	Clindamicina 1 mg + Dexametasona 400 µg	Somente para toxoplasmose ocular; pode precisar ser repetido 1 ou 2 vezes se a resposta for abaixo do ideal
Azitromicina + Esteróides	Azitromicina oral (500 mg seguida de 250 mg diariamente) Esteróides (a serem determinados)	Diminuição do tamanho da lesão retiniana, eliminação da inflamação vítrea e melhora da acuidade visual após 6 a 12 semanas de tratamento. A dose ideal de esteróides não está estabelecida, a maioria dos especialistas usa 0,5 a 1 mg / kg / dia.
TMP-SMX + Esteróides	TMP-SMX 160/800 mg duas vezes diariamente. Esteróides (a serem determinados)	Diminuição do tamanho da lesão retiniana, eliminação da inflamação vítrea e melhora da acuidade visual após 6 a 12 semanas de tratamento. A dose ideal de esteróides não está estabelecida, a maioria dos especialistas usa 0,5 a 1 mg /-kg/-dia

Nos casos de infeções oculares graves, os oftalmologistas, frequentemente recomendam o uso concomitante de esteróides. O tratamento habitual é a Prednisona - de 0,5 a 1 mg / kg / dia com diminuição gradual (sempre controlada pelo especialista).

Deve-se notar que, apesar das diretrizes clínicas existentes, não há consenso entre especialistas em relação aos efeitos benéficos entre o tratamento e a escolha de antibióticos para o tratamento da TO (Holland. G.N.; et al; 2002).

Um relatório da Associação Americana de Oftalmologia (AAO) (Kim S.J. et al; 2013) destacou a falta de evidência de nível I que apoie o uso de antimicrobiano na TO aguda

em pacientes imunocompetentes. Esta conclusão é apoiada por uma revisão efetuada por Gibert *et al.* (Gilbert R.E. et al; 2002) para estudos randomizados entre tratamentos com antibióticos, tratamento com placebo e nenhum tratamento. Esses estudos, não mostram dados que provem melhorias entre esses tratamentos em relação à melhoria da visão no caso da TO. Em qualquer caso, a diretriz estabelecida é o tratamento com antibióticos em casos de uveíte ou risco de perda de visão devido à TO. Nesses casos, os tratamentos escolhidos serão a injeção de Clindamicina mais corticoides (injeção única) como primeira linha, e Pirimetamina + sulfadiazina + ácido fólico ou TMP - SMX como segunda linha (Lashay A *et al.*, 2017).

A prevenção (**Tabela 11**), justifica-se em pacientes que apresentem lesões coriorretinianas que ameacem a visão próxima à mácula ou disco óptico ou em pacientes com recorrências graves e frequentes.

Tabela 11 Tratamento preventivo toxoplasmose ocular (Dunay, I.R; et al; 2018)

Fármaco	Regime	Comentários
Pirimetamina + sulfadoxina	6 meses: regime quinzenal de pirimetamina e sulfadoxina. 21 dias (intensivo)	A probabilidade de um período livre de recidiva de 3 anos (muito tempo após a interrupção da profilaxia) era de 90%
TMP-SMX	TMP-SMX (160/800 mg a cada 3 dias até 20 meses)	Verificou-se que diminui a taxa de recorrência de 3 anos em comparação com a do grupo sem tratamento (24%)

- **Pacientes imunodeprimidos**

No caso de pacientes imunodeprimidos, há sempre necessidade de tratamento farmacológico. O tratamento de primeira linha será Pirimetamina - sulfadoxina ou pirimetamina-clindamicina com ácido folínico ou TMP-SMX

A TO no paciente imunocomprometido deve sempre ser sempre tratada, idealmente com terapia sistémica (pir-sulf ou pirimetamina-clindamicina com ácido folínico ou TMP-SMX).

8.3. Tratamento toxoplasmose congénita

- **Tratamento da toxoplasmose na gravidez.**

No caso de mulheres grávidas com toxoplasmose latente adquirida anteriormente e não imunodeprimidas, não experimentarão reativação da patologia (exceto ocular isoladamente), portanto, não haverá risco de transmissão vertical da infeção.

Dada a possibilidade de desenvolver toxoplasmose congénita (TC) após infeção materna primária, geralmente é oferecido um tratamento pré-natal (**Tabela 12**) para impedir a transmissão vertical e/ou diminuir a gravidade da infeção no caso do feto poder ser afetado, evitando assim possíveis sequelas (Baquero-Artigao F. et al; 2013).

O uso da espiramicina, tradicionalmente a principal ferramenta, demonstrou ser altamente dependente da altura da gravidez em que o tratamento é aplicado e se já existe uma infeção fetal anterior. Destaca-se a sua eficácia máxima quando a espiramicina é usada nas primeiras 3 semanas após a seroconversão e tem como limite efetivo razoável, para seu uso, as 8 primeiras semanas após a seroconversão (Thiébaud R. et al; 2007).

Como alternativa à monoterapia com espiramicina seria usar um tratamento concomitante de Pirimetamina e Sulfadiazina; nos casos em que a infeção possa exceder as 14 semanas da gravidez (a sociedade pediátrica espanhola estabelece 18 semanas). Isto é devido ao facto da molécula (espiramicina) atravessa a barreira placentária com dificuldade. Deve ser adicionado ao tratamento com antibiótico, ácido folínico (10 a 15 mg / dia) para evitar problemas no desenvolvimento fetal.

O uso de uma terapia concomitante de Pirimetamina – Sulfadiazina, deve ser restrito aos casos em que haja um resultado positivo para infeção fetal no líquido amniótico, uma vez que existem riscos no uso de pirimetamina e sulfadiazina. O primeiro medicamento (Pirimetamina) tem um alto potencial teratogénico, e o seu uso é recomendado só após as 18 semanas; e o segundo (Sulfadiazina) pode causar insuficiência renal aguda reversível.

Tabela 12 Terapia de toxoplasmose em mulheres grávidas (Adaptada de Baquero-Artigao F. et al 2012. SEIP)

Terapia de toxoplasmose em mulheres grávidas			
Fármaco	Dose	Indicação	Comentários
Espiramicina	1g/8h Via oral até o nascimento	Diminuição do risco de infecção fetal	Recomendado para continuar o tratamento até o final da gravidez. O tratamento pode ser descontinuado se a PCR no líquido amniótico for negativa
Pirimetamina	50mg/día Via oral até o nascimento	Diminuição de sequelas em fetos infectados	Teratogénico. Não usar em crianças menores de 18 semanas. Possível depressão da medula óssea. Tratamento concomitante com ácido fólico 10-15 mg / dia via oral. Hemograma semanal
Sulfadiazina	2g/12h Via oral até o nascimento	Diminuição de sequelas em fetos infectados	Possível depressão da medula óssea. Tratamento concomitante com ácido fólico 10-15 mg / dia via oral. Hemograma semanal

Os dois regimes para a aplicação da terapia combinada Pirimetamina - Sulfadiazina, recomendada pela Sociedade Espanhola de Infectologia Pediátrica (SEIP) (Baquero-Artigao F. et al 2012. SEIP), são:

1. Administrar 3 semanas seguidas a pirimetamina (50 mg / dia oral juntamente com sulfadiazina (4 g / dia dividido em 2 a 4 doses oral) alternando com 3 semanas de espiramicina (1 g / 8 h oral) até o parto.
2. Administração continua de pirimetamina e sulfadiazina até o parto.

As terapias de acordo com a FDA são mostradas na **Tabela 13**

Tabela 13 Tratamento da toxoplasmose aguda em mulheres grávidas FDA (Adaptada de Dunay, I.R; et al; 2018)

Fase de infecção	Regime	Comentários
Infeção materna com menos de 14 semanas de gestação, sem infecção fetal	Espiramicina (1 g por via oral [3 milhões de unidades] / 8 horas até o parto)	A espiramicina não é eficaz no tratamento de infecção fetal estabelecida e, portanto, deve ser usada apenas para prevenção da transmissão vertical A amniocentese e o ultrassom fetal devem ser realizados quando possível para descartar infecção fetal
Infeção materna com > 14 semanas de gestação	Pirimetamina (100 mg / dia durante 2 dias e depois 50 mg / dia) mais sulfadiazina (1 g / 8h [peso corporal <80 kg] ou 1 g / 6h [peso corporal ≥80 kg]) mais ácido fólico (10-20 mg diariamente pendente ECOGRAFIÁ fetal e amniocentese) Se for confirmado que o feto está infectado (ECOGRAFIA anormal e / ou PCR positivo para líquido amniótico) P, continuare com a pirimetamina mais sulfadiazina e ácido fólico até o parto Se o feto não estiver infectado (ECOGRAFIA normal e / ou PCR de líquido amniótico negativo) , a pirimetamina mais sulfadiazina e ácido fólico podem ser trocados para Alternativamente, a pirimetamina mais sulfadiazina e ácido fólico podem ser continuados até o parto ou alternados com espiramicina mensalmente	A pirimetamina é teratogénica e não deve ser usada no início da gravidez ECOGRAFIA fetal em série e PCR de líquido amniótico devem ser realizados com 18 semanas de gestação

Nos casos de alergia à pirimetamina ou sulfadiazina, há modificações na terapia, embora não demonstrem a mesma eficácia no tratamento (**Tabela 14**):

Tabela 14 Terapia alternativa para mulheres grávidas alérgicas. (Baquero-Artigao F. et al 2012. SEIP)

Modificações terapêuticas contra alergias.			
Alérgeno	Substituição	Dose	Comentários
Pirimetamina	Trimetoprim - Sulfametoxazol	5/25–10/50 mg/kg/24h (doseado/ 8h)	Suspender a sulfadiazina
Sulfadiazina	Azitromicina	500 mg/24 h	Parcialmente eficaz
Sulfadiazina	Claritromicina	300 mg/8 h	Parcialmente eficaz

- Tratamento em recém-nascidos

A gravidade da TC pode variar de assintomática até uma doença neurológica grave ou morte do recém-nascido. Em países como Portugal e Espanha, onde as mulheres grávidas são rastreadas quanto à possibilidade de haver infecção primária por *T. gondii* (com a sorologia mensal para *T. gondii*) as mulheres recebem tratamento pré-natal quando há evidência de infecção primária. Na maioria os casos de TC que são diagnosticados sem sinais ou sintomas aparentes, geralmente têm um bom prognóstico, se a terapia antitoxoplasma for iniciada após o nascimento. O tratamento “Gold-Standard” é baseado no uso combinado de Pirimetamina - Sulfadoxina juntamente com ácido folínico.

É provável que as manifestações clínicas sejam evidentes em recém-nascidos cujas mães não foram diagnosticadas na fase pré-natal ou tratadas por toxoplasmose primária. A triagem de infecção congénita por serologia, imagem craniana e exame oftalmológico deve ser realizada em todos os recém-nascidos de mães com infecção materna primária para detectar casos assintomáticos. Isso é importante porque, mesmo os recém-nascidos sem sinais ou sintomas de doença clínica, podem desenvolver mais tarde manifestações clínicas com sequelas significativas (principalmente na ausência de tratamento). Verificou-se também que o tratamento pós-natal tem dois benefícios (**Tabela 15**): Primeiro consegue diminuir o desenvolvimento de novos sinais e sintomas e segundo, consegue evitar que a clínica dos sinais e sintomas existentes possam piorar (Mc. Leod. R; et al; 2006).

Tabela 15 Tratamento da toxoplasmose congénita em recém-nascidos (Dunay, I.R; et al; 2018)

Fase de infecção	Regime	Comenários
Infeção congénita em recém-nascidos	Pirimetamina (1 mg / kg / 12h durante 2 dias e depois 1 mg / kg / dia durante 2 a 6 meses e depois 1 mg / kg / dia 3 vezes por semana) mais sulfadiazina (50 mg / kg / 12h) mais ácido folínico (10 mg 3 vezes por semana)	O tratamento deve ser iniciado assim que possível após o nascimento e continuado por pelo menos 1 ano

8.4. Tratamento em pacientes imunodeprimidos.

8.4.1. Pacientes infectados pelo VIH

Nos casos de pacientes infectados pelo VIH com contagens de CD4 $<100 / \text{mm}^3$, a manifestação típica de toxoplasmose ocorre na forma de encefalite por *T. gondii* (TE); fruto de uma reativação de uma infecção latente adquirida anteriormente e ocorrendo como parênquimatosas, solitárias ou múltiplas.

Independentemente de outras formas de doença diferentes da TE, o tipo de tratamento será o mesmo (**Tabela 16**).

Tabela 16 Tratamento de toxoplasmose aguda em imunossuprimidos (Adaptada de Dunay, I.R; et al; 2018)

Terapia de indução	Terapia de manutenção	Comentários
Para aqueles com peso corporal ≥ 60 kg, pirimetamina (200 mg uma vez e depois 75 mg diariamente) mais sulfadiazina (1,5 g q6h) mais ácido fólico (10–50 mg diários)	Pirimetamina (50 mg por dia) mais sulfadiazina (1 g q6h) mais ácido fólico (10–25 mg por dia)	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitoradas regularmente Deve ser assegurada uma hidratação adequada para evitar danos renais por cristalúria
Para aqueles com peso corporal < 60 kg, pirimetamina (200 mg uma vez e depois 50 mg diariamente) mais sulfadiazina (1 g q6h) mais ácido fólico (10–50 mg diários)	Pirimetamina (25 mg por dia) mais sulfadiazina (0,5 g q6h) mais ácido fólico (10–25 mg por dia)	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitoradas regularmente Deve ser assegurada uma hidratação adequada para evitar danos renais por cristalúria
Pirimetamina mais ácido fólico (dosagem conforme descrito acima) mais clindamicina (600 mg q6h)	Pirimetamina mais ácido fólico (dosagem conforme descrito acima) mais clindamicina (600 mg q8h)	As contagens sanguíneas devem ser monitoradas regularmente A clindamicina pode causar diarreia, incluindo infecção por <i>Clostridium difficile</i>
TMP-SMX (10/50 mg / kg / dia em doses divididas) Podem ser usadas doses mais altas de 15/75 ou 20/100 mg / kg / dia	TMP-SMX (5/25 mg / kg / dia em doses divididas)	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitoradas regularmente Deve-se garantir uma hidratação adequada para evitar danos renais por cristalúria
Atovaquona (1.500 mg duas vezes por dia) \pm pirimetamina mais ácido fólico (dosagem conforme descrito acima)	Atovaquona (750-1.500 mg duas vezes ao dia) \pm pirimetamina mais ácido fólico (dosagem conforme descrito acima)	Contagens sanguíneas e função hepática devem ser monitoradas regularmente A suspensão de atovaquona deve ser tomada com uma dieta rica em gordura para otimizar a biodisponibilidade
Atovaquona mais sulfadiazina (dosagem descrita acima)	Atovaquona mais sulfadiazina (dosagem descrita acima)	Contagens sanguíneas, creatinina e função hepática devem ser monitoradas regularmente A suspensão de atovaquona deve ser tomada com uma dieta rica em gordura para otimizar a biodisponibilidade
Pirimetamina mais ácido fólico (dosagem conforme descrito acima) mais azitromicina (1.000 mg diários) A claritromicina pode ser usada em vez da azitromicina, mas está associada a mais intolerância gastrointestinal e interações medicamentosas. Se usado, é preferida uma dose mais baixa de 500 mg duas vezes ao dia, especialmente em pacientes infectados pelo HIV; a eficácia deste regime de dosagem não é clara (consulte o texto para detalhes).	Pirimetamina mais azitromicina não é recomendada devido a uma alta taxa de recidiva; um dos regimes acima deve ser usado	As contagens sanguíneas devem ser monitoradas regularmente A azitromicina pode causar problemas auditivos e um intervalo QT prolongado

No caso da terapia combinada com Pir-Sulf para tratar a TE, mostrou-se uma taxa de resposta de 80% de sucesso. Por outro lado, o tratamento causa danos ao paciente devido à toxicidade hematológica em 60% dos casos. Com a ideia de reduzir essa toxicidade hematológica associada à pirimetamina, os pacientes recebem um tratamento complementar com ácido folínico. Em muito menor grau, surgiram reações adversas do tipo leucopenia (aparecem em média aos 26 dias de tratamento), trombocitopenia, erupção cutânea (rash) e febre em uma percentagem entre 12 e 19% (Dunay, I.R; et al; 2018). Devido à alta taxa de reações adversas, foi procurada uma alternativa ao tratamento com pirulfato.

A taxa de reações adversas inaceitáveis, além do número elevado de comprimidos associada ao pir-sulf, levaram à busca de outras opções terapêuticas. Os estudos concluíram que a associação pirimetamina-clindamicina é tão eficaz no tratamento do TE quanto o Pir-Sulf (Gomez Marin, Jorge Enrique; 2002).

Como terceira alternativa, encontrou-se uma terapia baseada no Cotrimoxazol (TMP-SMX) em duas modalidades de dosagem: de 6,6 a 20 mg/kg/dia e 10 mg/kg/dia (ambos respectivamente ao componente TMP) durante 4 semanas (ambas as modalidades). Num estudo retrospectivo de 71 pacientes com TE relacionada com VIH, 87% dos pacientes tiveram resolução completa ou parcial dos sintomas (Beraud G; et al; 2009). Estudos mais recentes baseados numa meta-análise mostram que, no caso de tratamentos para TE em pacientes com VIH, não há diferenças entre os três tratamentos (Wei HX; et al; 2015)

8.4.2. Pacientes receptores de transplante de células hematopoiéticas (HCT)

Para receptores de transplante de células hematopoiéticas, o tratamento profilático é recomendado nos primeiros 6 meses após o HCT (aumento do risco de reativação precoce), uma vez que para esses pacientes a toxoplasmose não tratada pode ser fatal.

O tratamento é baseado nos mesmos medicamentos que são utilizados em pacientes com toxoplasmose por VIH (Pry - Sulf, Cotrimoxazol e pirimetamina-clindamicina).

8.4.3. Transplantes de órgãos sólidos (SOT)

A toxoplasmose pode-se originar pela recepção de um órgão infetado de um dador seropositivo ou pela reativação de uma infeção anterior que estava em estado latente. A

reativação ocorre principalmente em receptores de transplante cardíaco, dada a predileção de *T. gondii* por tecidos musculares cardíacos.

O tratamento para esses pacientes não é padronizado. Pode ser semelhante ao aplicado a pacientes com TE com VIH. Em qualquer caso, a diminuição da dose do tratamento com imunossupressores deve ser realizada com cautela.

8.4.4. Toxoplasmose em imunocomprometidos nem transplantados nem com VIH.

Para esses pacientes, o tratamento, como no caso anterior, também não é padronizado, sendo semelhante ao prescrito no caso de pacientes com TE com VIH.

8.5. Novas estratégias no tratamento da fase crónica

As novas estratégias no tratamento da toxoplasmose na sua fase crónica, concentram seus esforços na interferência nos processos de interconversão taquizoíta-bradizoíta (Cerutti et al, 2020).

Em relação aos quistos que se formam nos tecidos, não foram obtidos resultados com os medicamentos comumente usados na toxoplasmose aguda, como atovaquona, pirimetamina e sulfadiazina. Pelo que, com o atual arsenal terapêutico, não se conseguiu obter um tratamento capaz de eliminar definitivamente os parasitas na fase quística e, portanto, curar infeções crónicas definitivamente.

Nos métodos de tratamento farmacológico das diferentes fases da toxoplasmose (aguda e crónica), encontraram-se inibidores da **CDPK1**, uma proteína quinase dependente do Ca^{2+} , cuja função é regular diferentes funções no ciclo de vida do parasita: mortalidade parasitária, invasão celular e saída. Essa via possibilita não apenas o tratamento da fase aguda, mas também a fase crónica, impedindo a reativação do bradizoíta.

Considerando a biologia do bradizoíta, novas abordagens aparecem em estratégias que visam diminuir a formação de quistos e diminuir sua resistência, bem como impedir o desenvolvimento de bradizoíta.

8.5.1. Bloqueio do processo de diferenciação fechando programas de transcrição ou tradução

As ações terapêuticas de bloqueio têm como alvo impedir a diferenciação de taquizoíto para bradizoíto, bloqueando a transcrição dos genes específicos dos bradizoíto e a tradução de proteínas específicas. Esta ação inibitória sobre a transcrição e a tradução, evita ípor si só a formação de quistos, impedindo a passagem de taquizoíto para bradizoíto. O protagonista desta estratégia é o fator de transcrição BFD1 (Body Fluid Distribution Locus 1) recentemente caracterizado, necessário para a diferenciação celular. O fator BFD1 acumula-se durante as situações de estresse, sendo a síntese da sua expressão suficiente para gerar diferenciação taquizoíto - bradizoíto. O fator de transcrição BFD1, liga-se aos promotores de muitos genes específicos do estágio de transcrição e representa um complemento aos fatores ApiAP2 (Apicomplexan Apetela 2), que são (até agora) os fatores que dominam a concepção atual da regulação genética do *T. gondii* (Waldman, BS, 2020).

A desativação do fator de transcrição BFD1 leva à completa incapacidade do *T. gondii* de gerar quistos; evitando assim o início da fase crônica da infecção (**Figura 24**) (B. S. Waldman, 2020)

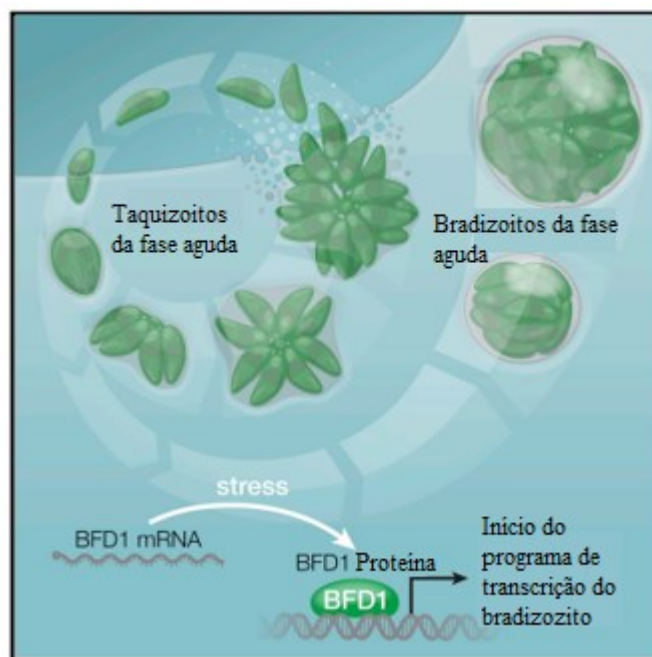


Figura 24 O fator de transcrição (BFD1) desencadeia a transformação do *T. gondii* da fase taquizoítica para a fase bradizoita (Adaptado de B. S. Waldman, 2020)

Ao contrário da estratégia descrita anteriormente; seria possível teoricamente forçar a transcrição da forma de bradizoíto para taquizoíto; e dessa forma, ‘obrigar’ a passagem para a forma ativa de todas as formas “silenciosas” dos quistos. Uma vez passado de bradizoítos para taquizoítos, os parasitas podem ser facilmente eliminadas pelo sistema imunológico ou pelos tratamentos farmacológicos tradicionais. Para evitar riscos em indivíduos imunocomprometidos, esses fármacos moduladores da transcrição devem ser administrados concomitantemente com fármacos eficazes para o tratamento de taquizoítos e assim, alterar o controle epigenético da expressão genética do bradizoíto (Maubon, D et al., 2010).

As estratégias para o controle do fator de transcrição BFD1 englobam:

- Evitar a ligação ao DNA
- Modular sua expressão ou degradação
- Bloquear as interações proteína / proteína
- Modular a acetilação de histonas específicas

A estratégia de ação sobre o fator de transcrição BFD1 tornaria possível o uso de taquizoítos atenuados, inibindo o fator. Permitindo, assim, a proliferação de taquizoítos até que uma resposta imune adequada seja alcançada, mas impedindo a passagem para bradizoítos e a consequente possibilidade de quisto e cronicidade. São estratégias profiláticas indicadas apenas em pacientes imunocompetentes

8.5.2. Interferir na biogénese ou na integridade da parede do quisto.

A parede do quisto é composta principalmente de glicoproteínas como a PPG1 (Proteofosfoglicano – 1) e CST1 (Cistatina 1) complexos macromoleculares altamente imunogênicos. Ao longo da superfície da membrana limitadora da parede do quisto, existem invaginações complexas, o que implica um aumento na superfície de troca da matriz do quisto e o citoplasma da célula hospedeira, permeável a moléculas de tamanho menor ou igual a 10 kDa. Cada bradizoíto é conectado por vesículas à matriz do quisto, recebendo através desses túbulos os nutrientes necessários para o seu metabolismo.

Atuar sobre as proteínas que compõem a parede do quisto, alterando a integridade de sua estrutura, enfraquecendo-a, não significaria apenas maior acessibilidade do sistema

imunológico ao conteúdo do quisto facilitando sua ação; ao contrário, prejudicaria o desenvolvimento dos bradizoítos, tornando-os mais susceptíveis à ação do tratamento farmacológico. Nesta linha, está sendo estudada a ação das enzimas ou transportadores envolvidos na glicosilação das proteínas da parede do quisto como objetivos terapêuticos como: o transportador de nucleotídeo-açúcar de *T. gondii* NTS1 (Nucleoside transporters 1) (Caffaro, C. E, et al; 2013) ou a galactosaminiltransferase ppGalNAc-Ts (Tomita, T. et al; 2017)

8.5.3. Identificação de pontos fracos metabólicos

Tradicionalmente, acreditava-se que os bradizoítos estavam paralisados dentro do quisto, mas recentemente foi elucidado que seu crescimento é simplesmente muito mais lento e mais heterogêneo do que o dos taquizoítos, e com um metabolismo muito lento e com necessidades mínimas (Sinai, AP; 2016). Assim, as alterações metabólicas nas células hospedeiras induzem os mecanismos que iniciam a mudança de taquizoítos para bradizoítos.

A geração de energia nos bradizoítos é realizada pela glicólise anaeróbica, pelo ciclo do ácido tricarboxílico nas mitocôndrias e na fosforilação oxidativa. Parece que um caminho que os parasitas exploram como um modo de armazenamento de energia é o armazenamento de grânulos de amido feitos de amilopectina (Cerutti et al, 2020). Mas o armazenamento desses grânulos é prejudicial ao quisto. Assim, agir no fluxo de consumo e produção de amilopectina é um objetivo terapêutico, o qual poderia ser realizado como ação sobre a proteína quinase ou enzima glicogénio fosforilase.

Os bradizoítos têm a capacidade de adquirir lipídios da célula hospedeira para fins estruturais. Dessa maneira, a enzima Diacilglicerolaciltransferase (DGAT) aparece como objetivo terapêutico, uma enzima primária para síntese e armazenamento de lipídios; o que iria produzir malformações nos bradizoítos.

8.6. Prevenção

8.6.1. Tratamentos da carne para eliminar a viabilidade do *T. gondii*

Em termos gerais, devido à relevância cultural gastronômica ibérica tanto em Espanha quanto em Portugal, a atenção será dirigida para a exposição de ações preventivas, não só

em qualquer tipo carne em geral e ou enchidos; mas destacando a produção do presunto que é um dos principais tesouros gastronómicos ibéricos.

O Ministério da Agricultura de Espanha define um período mínimo de cura de 600 dias para presuntos (perna da frente do porco) entre 5,75 kg e 7 kg e um período de 365 dias para a “paleta” (perna traseira do porco) (Gómez-Samblas et al., 2016). De acordo com estudos anteriores, sabe-se com certeza que os parasitas causadores de doenças presentes no presunto curado por pelo menos 14 meses são inativados (Bayarri et al., 2010; Bayarri et al., 2012; Gómez-Samblas et al., 2015; Gómez-Samblas et al., 2016; Herrero et al., 2017).

Existem diferentes denominações de origem no presunto Serrano, dependendo do tempo de cura a que estão expostos:

- Presunto de adega: nesta denominação, as peças passam por um processo de cura durante 12 meses.
- Presunto de Reserva: as peças são curadas entre 12 e 15 meses.
- Presunto Gran Reserva: é o presunto mais apreciado. As peças são submetidas a processos de cicatrização por mais de 15 meses (Gómez-Samblas et al., 2016)

A produção de presunto Serrano e presunto Ibérico, implica um processo no qual as peças são sangradas e salgadas: as peças são cobertas com sal marinho e mantidas a uma temperatura entre 1°C e 5°C/durante 5 dias. Após essa etapa, as peças passam por um processo de salga em que a temperatura sobe para 15°C/ durante 10 dias, para permitir a desidratação e a penetração de sal. Após esta segunda etapa de salga, as pernas de porco são lavadas com água morna, secas e amadurecidas, controlando rigorosamente a ventilação e mantendo sempre uma temperatura que varia entre 15°C e 20°C durante 18 meses. Finalmente, os presuntos são curados em local fresco e seco entre 6 e 18 meses (Gómez-Samblas et al., 2016).

Como resultado desse processo, é obtido o presunto curado, com cerca de 50% de água (Ventanas et al., 2007).

No caso do presunto Serrano, o Ministério da Agricultura, Alimentação e Meio Ambiente (2014) define um teor máximo de água de 50% e um gradiente máximo de humidade de 12% entre as partes externa e interna do presunto. Além disso, a Especialidade

Tradicional Garantida (ETG) (Comunidade Européia, 2006) define uma salinidade máxima (teor de NaCl de 15%) do peso seco total para o presunto Serrano. Estudos realizados por vários autores (Gómez-Samblas et al., 2016) revelaram que uma concentração hipertônica de 6% de NaCl afeta drasticamente a sobrevivência do parasita (Gómez-Samblas et al., 2016).

Como mencionado anteriormente neste capítulo, a viabilidade do parasita também depende do tipo de processo de cura ao qual a carne é submetida. Num estudo realizado por Gómez-Samblas *et al.* (2016) diferentes peças de presunto foram submetidos a quatro tratamentos diferentes:

Tratamento A: O tratamento consistiu em congelar as peças abaixo de -20°C por 3 dias antes de curar e salgar.

Tratamento B: As peças foram salgadas com sal marinho e nitritos (75% - 25% respectivamente)

Tratamento C: O processo consistiu na realização do tratamento tradicional, no qual as peças são salgadas apenas com sal marinho (maior teor em NaCl que no tratamento B).

Tratamento D: No tratamento, as peças foram salgadas e curadas por 7 meses (presunto) ou 5 meses (paleta) e subsequentemente congeladas a -20°C por 3 dias.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que no tratamento “A”, 40% dos presuntos foram positivos para *T. gondii* após um mês e apenas 20% das paletas apresentaram quistos viáveis após três meses. Comparado com os outros tratamentos, o tratamento “A” apresentou a maior taxa de mortalidade parasitária em um curto espaço de tempo (1 mes), já que só um mês após o início do tratamento, 60% das amostras do presunto eram negativas para o parasita (Gómez-Samblas et al., 2016). O tratamento “A” revelou apenas 20% de viabilidade do parasita nas paletas após 3 meses e 0% de viabilidade após 5 meses, tanto nos presuntos quanto nas paletas.

No tratamento “B”, observou-se que, após 3 meses, 60% dos presuntos e 20% das paletas eram positivos para *T. gondii* e que após de 7 meses de cura foi completamente removido o parasita nos presuntos.

Resultados semelhantes ao tratamento “A” foram obtidos no tratamento “C” após 5 meses, já que 5 meses foram suficientes para eliminar o parasita de todas as amostras. Por outro lado, três meses de cura não foram suficientes para remover completamente o *T. gondii* viável das amostras (percentagem de viabilidade parasitária após 3 meses 60%).

No tratamento “D”, as amostras colhidas nos presunto e na paleta de porco após 3 meses de cura não continham parasitas viáveis, uma vez que 100% das amostras foram negativas no bioensaio (**Figura 25**). Isto significa que este tratamento C é o mais eficaz em atingir a letalidade parasitária máxima mais cedo (3 meses).

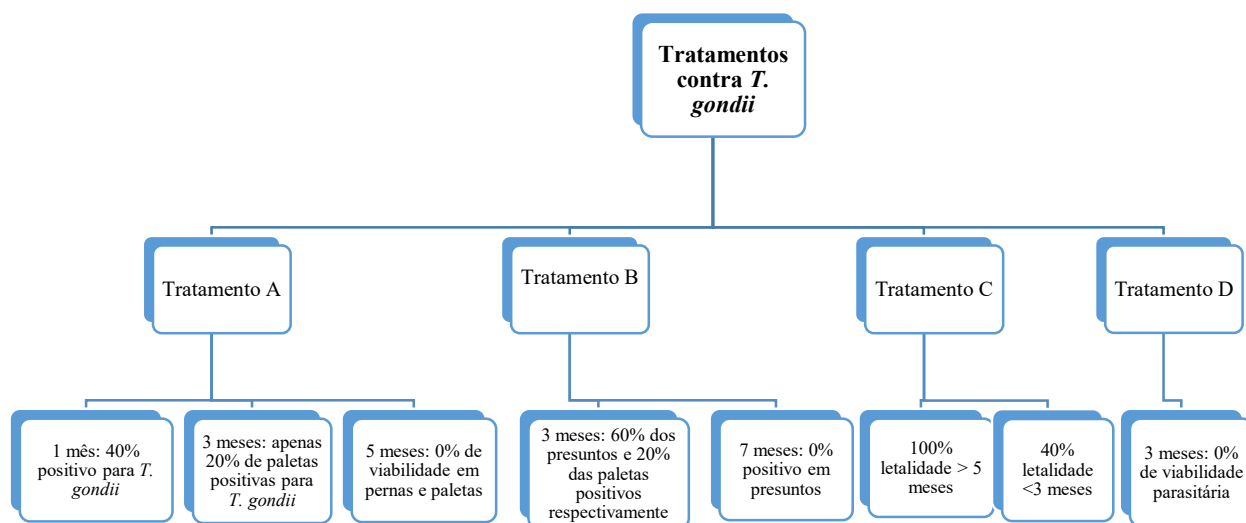


Figura 25 Viabilidade de *T. gondii* após a aplicação de diferentes tratamentos no processo de cura de presuntos e paletas de porco (Gómez-Samblas et al., 2016)

Gómez-Samblas et al. (2016) observaram a alta segurança dos tratamentos mencionados acima na eliminação da viabilidade do *T. gondii* após 7 meses; já que, com exceção do tratamento “B”, o parasita pode ser totalmente inativado após 5 meses com os tratamentos A, C e D. Os autores também observaram que, quando a carne é congelada abaixo de -20°C antes do processo de cura (tratamento “A”) ou após do processo de cura (tratamento “D”), a viabilidade do parasita é eliminada em apenas 3 meses. Esta observação pode ser explicada pelo teor de NaCl nas peças pelo tratamento de congelamento. Estudos

realizados por vários autores (Toldra, 1998; Barat et al., 2006) revelaram que os presuntos congelados / descongelados (antes e depois do salgado), tiveram uma maior absorção de sal do que os presuntos não congelados (Gómez-Samblas et al., 2016). Além disso, o estudo mostrou que os parasitas presentes no presunto curados durante 14 meses não eram infectantes. A inativação de protozoários durante o processo de cura é um processo complexo que envolve a absorção de NaCl que produz desidratação e pode ser uma consequência das modificações da carne induzidas pela fermentação, incluindo lipólise e ação de enzimas proteolíticas nos músculos (Gómez -Samblas et al., 2015).

Por outro lado, o congelamento de quistos de *T. gondii* a -20°C demonstrou resultar em perda de infectividade (Gómez-Samblas et al., 2016), embora o congelamento também tenha sido relatado como não sendo um método completamente eficaz de eliminar quistos de *T. gondii* quando aplicado sozinho (Gómez-Samblas et al., 2015).

Após o estudo realizado por Gómez-Samblas et al. (2016) concluiu-se que todos os tratamentos testados levaram à inativação de quistos viáveis após 7 meses. É por isso, que uma técnica que poderia ser realizada pelas empresas produtoras de carne para garantir a eliminação do *T. gondii* de seus produtos poderia incluir o congelamento e o descongelamento da carne, antes ou depois do processo de salga e cura.

8.6.2. Prevenção de toxoplasmose em mulheres grávidas não imunes

No caso de mulheres grávidas diagnosticadas com IgG negativa, geralmente existe um protocolo de recomendações em nível europeu (Baquero-Artigao F. et al; 2013):

1. Consumir apenas carne cozida a mais de 75 ° C ou carne congelada a -20 ° C por mais de 24 h (idealmente > 72 h)
2. Lavar frutas e legumes com produtos desinfetantes.
3. Fazer uma lavagem das mãos depois de manipular carne ou vegetais crus que estiveram em contato com o solo.
4. Tentar evitar o contato com gatos. Se tiver um gato doméstico em casa, o animal deve ser manuseado com luvas, desinfetando seus utensílios com água fervente ou lexívia; evitando, tanto quanto possível, a limpeza da caixa de areia e, fundamentalmente, o contato com as fezes.

5. Ao trabalhar com plantas, proteger as mãos com luvas e evitar o contato com a boca. Depois do trabalho, lavar muito bem as mãos.
6. Evitar o consumo de produtos à base de carne não cozida, especialmente salsichas caseiras.

De um modo geral, as medidas sanitárias e de higiene mantidas por estabelecimentos de restauração oferecem, tanto em Portugal como em Espanha, as garantias mínimas para pratos cozidos e não cozidos (eminentemente saladas e pratos frios).

Em qualquer caso e por precaução, sempre que os alimentos forem consumidos fora de casa, é aconselhável que sejam cozidos na hora e excedam em sua elaboração as temperaturas mínimas marcadas como inativadoras do parasita em todas as suas formas.

8.7. Vacinas

O facto de uma infeção natural por *T. gondii* em indivíduos imunocompetentes geralmente fornecer uma resposta imune satisfatória; sugere que uma vacina eficaz é bem possível. Estudos baseados na análise das interações produzidas entre a membrana superficial do parasita e as moléculas localizadas na superfície da célula hospedeira, orientam os esforços para o desenvolvimento de uma possível vacina com as proteínas de superfície do parasita como alvo. (Castaño Osorio J. C.; 2002).

Existem 5 proteínas principais na superfície do taquizoító de *T. gondii*, cuja função é o reconhecimento e subsequente adesão à célula-alvo. Dessas proteínas, as mais abundantes são P30 e P22, conhecidas como SAG1-P30 (P30 Major Surface Antigen) e SAG2-P30 (P22 Major Surface Antigen). Infelizmente, até agora, embora esses antígenos de superfície de *T. gondii* tenham produzido uma boa resposta humoral e celular, não produzem uma resposta de longo prazo. Ao contrário do que acontece com as infecções naturais em que a latência da infeção continua a estimular o sistema imunológico, a vacina com antígeno atinge apenas uma resposta temporária. A fim de alcançar uma resposta imune protetora de longo prazo, foram desenvolvidos linhagens mutantes de parasitas vivos com virulência atenuada, incluindo TS-4 (ATCC 40.500), S-48 e T-263 (ATCC 40.615) (Castaño Osorio J. C.; 2002).

A invasão de uma célula pelo parasita impede uma resposta protetora, em parte devido à resistência do vacúolo parasitóforo (PV) à fusão com os lisossomas da célula hospedeira (Tosh et al., 2016; Sher et al., 2017). Os parasitas fagocitados, por outro lado, irão fundir-se com o lisossoma para formar um fagolisossoma. Posteriormente, os parasitas serão degradados; e será induzida uma resposta através da produção de IL-12 (Sher et al., 2017). Uma resposta imune protetora só é alcançada quando parasitas vivos são fagocitados, talvez devido à secreção de proteínas do parasita durante o evento de fagocitose. Isso apoiaria o conceito de novas abordagens para o desenvolvimento de vacinas baseadas nos os parasitas vivos geneticamente modificados que são incapazes de invadir uma célula hospedeira, mas que ainda são suscetíveis à fagocitose. Isso seria uma alternativa diferente da vacinação com parasitas mortos, uma vez que a vacinação com parasitas vivos permitiria a secreção de proteínas do parasita durante a fagocitose que pode ser importante para gerar uma resposta imune protetora. Os problemas encontrados com essa estratégia de parasitas vivos geneticamente modificados são o alto custo de manipulação das estirpes e o alto risco de que as estirpes mutantes voltem ao seu estado natural de virulência (Innes E. A, et al; 2019).

Recentemente foi publicado um estudo onde são apresentadas indicações sobre o possível uso como vacina da proteína ROP38 (Rhoptry Protein 38) sozinha ou em combinação com diferentes antígenos ou epítomos devido ao seu papel como manipulador chave da expressão do gene hospedeiro e sua função na conversão de taquizoítos em bradizoítos (Chaechi Nosrati, M. et al, 2020)

9. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Tendo em consideração tudo o que foi exposto previamente neste trabalho; levantaram-se algumas questões::

- I. Podemos considerar que a situação em Portugal e em Espanha é otimizada em relação à população de mulheres grávidas? Que métodos de higiene preventiva poderiam ser usados nessa população para reduzir possíveis infecções futuras?
- II. Quais os testes ou metodologias preventivas poderiam ser implementados nos sistemas de saúde dos dois países?

- III. São tomadas medidas diligentes no diagnóstico preventivo de pacientes com toxoplasmose crónica?
- IV. Os tratamentos atuais em Espanha e Portugal para tratar todas as áreas e tipos de toxoplasmose estão adaptados às práticas clínicas mais atuais a nível internacional?
- V. A predileção do consumo de carne de porco e seus derivados não cozidos pelos habitantes da Península Ibérica pressupõe um risco para a população em termos de saúde pública?

Apesar da imensa prevalência de toxoplasmose a nível mundial e o elevado impacto da doença na saúde pública, as atuais políticas públicas de saúde orientadas para aumentar a natalidade, não incluem nenhum tipo de orientação para a educação de mulheres em idade gestacional (ou qualquer outro membro da população) sobre o *T. gondii* e sobre como prevenir uma possível infeção. É um tanto alarmante que *T. gondii* e a toxoplasmose continue sendo, um problema (talvez) secundário para nossos sistemas de saúde, e talvez um verdadeiro desconhecido para a grande maioria da população em geral. Medidas de prevenção pré-gravidez padronizadas e específicas não são consideradas pelas autoridades de saúde (como protocolos de triagem), limitando-se exclusivamente àquelas realizadas durante as visitas de acompanhamento a mulheres grávidas seronegativas que são considerados suficientes e razoáveis. É portanto, em maior medida, no caso das grávidas seropositivas onde começam a existir protocolos com critérios médicos unificados. Embora falem, também nesses casos, diretrizes gerais obrigatórias estabelecidas pelas autoridades nacionais de saúde. Portanto, seria benéfico seguir o provérbio "é melhor prevenir do que remediar", dado o risco potencial que a infeção por toxoplasmose pode produzir durante a gravidez; otimizando assim a cobertura e proteção das mulheres férteis e de seus futuros filhos contra possíveis infeções por toxoplasmose. De qualquer forma, em ambos os países, é evidente que a doença perde terreno, o que sem dúvida significa uma correção nos hábitos alimentares e uma melhoria, em geral, das medidas de higiene e saúde pública.

Dados estatísticos de estudos sobre seroprevalência de toxoplasmose estabelecidos em Portugal apresentados neste trabalho, coletados de 1980 a 2013, deixam claro que os novos hábitos alimentares adotados pela população portuguesa melhoraram os resultados face à toxoplasmose. Embora os hábitos alimentares atuais sejam nutricionalmente piores

(consumo excessivo de *fast food*), o alto nível de processamento dessas refeições deixa pouco espaço para a sobrevivência do parasita.

Focando o presunto como um produto tradicional ibérico, fica claro que os produtos tradicionais de suíno podem representar um risco potencial para a saúde dos recém-nascidos. Deste modo, os dados apresentados no presente trabalho reforçam a hipótese de aconselhar, como medida de saúde pública, a proibição do consumo de enchidos durante a gravidez. Nesta linha de pensamento, é necessário ainda definir com mais evidência a obrigação de implementar medidas de pré-tratamento (eficácia total na inativação de quistos a -20°C) da carne utilizada na produção de enchidos, embora isso possa significar uma alteração dos métodos tradicionais de fabrico desses produtos; mas representariam uma garantia irrefutável de segurança alimentar contra a infecção por *T. gondii*. Felizmente para a cultura gastronómica ibérica em geral, os presuntos curados corretamente estão livres da necessidade de medidas extras de pré-tratamento. Como é refletido neste trabalho, o *T. gondii* perde sua capacidade infecciosa após 7 meses de tratamento de salga, secagem e cura (5 meses no caso das paletas).

Tanto em Espanha quanto em Portugal, os tratamentos disponíveis utilizados em geral (além dos inibidores antimicrobianos tradicionalmente usados da di-hidrofolato redutase e di-hidropteroato sintetase) correspondem aos critérios considerados noutros sistemas de saúde, tendo como principal referência os padrões americano (FDA), britânico (NHS.UK), francês (ANSES - Agência Francesa de Alimentos, Segurança Ambiental e Saúde e Segurança Ocupacional) e normas da OMS.

Em relação aos casos de toxoplasmose latente, infelizmente, não existem tratamentos atuais totalmente eficazes que possam fornecer uma solução para o problema causado por essa doença que atinge um quarto da população mundial. De qualquer forma, atualmente existem vias de estudo e pesquisa que visam desenvolver estratégias para combater a toxoplasmose latente em pacientes crónicos; não apenas referindo-se ao seu ciclo lítico; mas focado na estratégia de tratamento contra os quistos. Especialmente dignos de nota são as descobertas sobre os inibidores da proteína CDPK1 e seu impacto no ciclo de vida do parasita na fase de bradizoíto, principal objetivo do combate à cronicidade da doença e que até agora são imbatíveis dentro dos seus quistos.

Como foi exposto na presente monografia, o fator de transcrição BFD1 (recentemente caracterizado) tem um papel determinante sobre os ciclos de *stress* que governam o ciclo de transformação taquizoíta - bradizoíta; sendo seu bloqueio um alvo terapêutico primordial. Outra alternativa destacada nesta monografia, como estratégia terapêutica, consiste em forçar a transformação de todos os bradizoítos para taquizoítos, alterando o controle epigenético da expressão do gene dos bradizoítos e modificando o controle metabólico do bradizoíta.

Como medida para diminuir as barreiras de proteção geradas pelo bradizoíta, existem abordagens terapêuticas que sugerem uma diminuição da integridade estrutural da parede do quisto, inibindo as glicoproteínas (principalmente PPG1 e CST1) que a formam. Todas essas estratégias são atualmente definidas a partir de evidências científicas e abrem portas à esperança de uma solução para o problema da toxoplasmose latente e suas consequências a longo prazo.

Existem certezas (a médio prazo) de uma possível vacina que usa linhagens mutantes de parasitas vivos com virulência atenuada, que, como no caso de infecções de origem natural, proporcionaria uma resposta imunológica satisfatória a longo prazo.

O nosso objetivo ideal como farmacêuticos pode ser direcionado para diferentes áreas. Como farmacêuticos comunitários e hospitalares trabalhar na educação e divulgação à população de formas de prevenção da doença. Como farmacêuticos na indústria farmacêutica, obter medicamentos que possam ser usados no tratamento de infecções agudas e crônicas simultaneamente, bem como participar no desenvolvimento de possíveis vacinas - ferramentas, até o momento, inexistentes no nosso arsenal terapêutico.

10. BIBLIOGRAFIA

- 1) Akoijam, B. S., Shashikant, Singh, S., & Kapoor, S. K. (2002). Seroprevalence of toxoplasma infection among primigravid women attending antenatal clinic at a secondary level hospital in North India. *Journal of the Indian Medical Association*, 100(10), 591–602.
- 2) Aliberti J. (2005). Host persistence: exploitation of anti-inflammatory pathways by *Toxoplasma gondii*. *Nature reviews. Immunology*, 5(2), 162–170. <https://doi.org/10.1038/nri1547>.
- 3) Antunes, F. – Toxoplasmose: Estudo da epidemiologia e da infecção congénita na região de Lisboa. Lisboa: Faculdade de Medicina de Lisboa. 1985. Dissertação de Doutoramento.
- 4) Bahia-Oliveira, L. M., Jones, J. L., Azevedo-Silva, J., Alves, C. C., Oréface, F., & Addiss, D. G. (2003). Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerging infectious diseases*, 9(1), 55–62. <https://doi.org/10.3201/eid0901.020160>.
- 5) Baquero-Artigao F. del Castillo Martínez F., I. Fuentes Corripio, A. Goncé Mellgren, C. Fortuny Guasch, M. de la Calle Fernández-Miranda, M.I. González-Tomé, J.A. Couceiro Gianzo, O. Nethh, J.T. Ramos Amador, Grupo de Trabajo de Infección Congénita y Perinatal de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP); 2012
- 6) Baquero-Artigao F., Martín F. D. C., Corripio I. F, Mellgren A. G., Fortuny C., Fernández M. D. L. C. et al. Guía de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica para el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis congénita. *Anales de Pediatría*. Barcelona: Elsevier Doyma; 2013; 79(2): 116.e1-e16.
- 7) Barat, J. M., Grau, R., Ibáñez, J. B., Pagán, M. J., Flores, M., Toldrá, F., & Fito, P. (2006). Accelerated processing of dry-cured ham. Part I. Viability of the use of brine thawing/salting operation. *Meat science*, 72(4), 757–765. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.10.013>.
- 8) Barrios, Patricia, Más, Mariana, Barloco, Ana Laura, Sayagués, Beatriz, & Giachetto, Gustavo. (2016). Infección de transmisión vertical por *Toxoplasma gondii*: seguimiento de los hijos de mujeres con primoinfección en una institución de asistencia médica colectiva; 2010-2015. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 87(Supl. 1), S20-S25.

- 9) Bartolomé Álvarez, Joaquín, Martínez Serrano, María, Moreno Parrado, Laura, Lorente Ortuño, Santiago, & Crespo Sánchez, María Dolores. (2008). Prevalencia e incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil en Albacete (2001-2007). *Revista Española de Salud Pública*, 82(3), 333-342.
- 10) Batet C. M., Llobet C. G., Morros T. J., Domenech L. V., Soler M. S., Sala I. S. et al. Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicéntrico realizado en 16.362 grávidas de Barcelona. *Medicina clínica*. 2004; 123(1): 12-16.
- 11) Baum, J., Papenfuss, A. T., Baum, B., Speed, T. P., & Cowman, A. F. (2006). Regulation of apicomplexan actin-based motility. *Nature reviews. Microbiology*, 4(8), 621–628. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1465>.
- 12) Bayarri, S., Gracia, M. J., Lázaro, R., Pe Rez-Arquillué, C., Barberán, M., & Herrera, A. (2010). Determination of the viability of *Toxoplasma gondii* in cured ham using bioassay: influence of technological processing and food safety implications. *Journal of food protection*, 73(12), 2239–2243. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.12.2239>.
- 13) Bayarri, S., Gracia, M. J., Pérez-Arquillué, C., Lázaro, R., & Herrera, A. (2012). *Toxoplasma gondii* in commercially available pork meat and cured ham: a contribution to risk assessment for consumers. *Journal of food protection*, 75(3), 597–600. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-350>.
- 14) Beraud G, Pierre-Francois S, Foltzer A, Abel S, Liautaud B, Smadja D, Cabie A. 2009. Cotrimoxazole for treatment of cerebral toxoplasmosis: an observational cohort study during 1994–2006. *Am J Trop Med Hyg* 80:583–587.
- 15) Black, M. W., & Boothroyd, J. C. (2000). Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 64(3), 607–623. <https://doi.org/10.1128/mmbr.64.3.607-623.2000>.
- 16) Caffaro, C. E., Koshy, A. A., Liu, L., Zeiner, G. M., Hirschberg, C. B., & Boothroyd, J. C. (2013). A nucleotide sugar transporter involved in glycosylation of the *Toxoplasma* tissue cyst wall is required for efficient persistence of bradyzoites. *PLoS pathogens*, 9(5), e1003331. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003331>.
- 17) Calero Bernal, Rafael; Actualización sobre la toxoplasmosis humana; UEX; 2013.

- 18) Casciotti, L., Ely, K. H., Williams, M. E., & Khan, I. A. (2002). CD8(+)-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* can be induced but not maintained in mice lacking conventional CD4(+) T cells. *Infection and immunity*, 70(2), 434–443. <https://doi.org/10.1128/iai.70.2.434-443.2002> Castaño Osorio, Jhon Carlos. (2002). Posibilidades de una Vacuna para Toxoplasmosis. *Revista de Salud Pública*, 4(Suppl. 1), 43-49.
- 19) Cerutti, A., Blanchard, N., & Besteiro, S. (2020). The Bradyzoite: A Key Developmental Stage for the Persistence and Pathogenesis of Toxoplasmosis. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(3), 234. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030234>.
- 20) Chaechi Nosrati, Mohammad & Ghasemi, Ezatollah & Shamsi, Morteza & Yousefi, Ali & Shamsinia, Sadegh & Nourmohammadi, Hassan & Javanmardi, Erfan & Kordi, Bahareh & Majidiani, Hamidreza & Dalir Ghaffari, Ali. (2020). *Toxoplasma gondii* ROP38 protein: Bioinformatics analysis for vaccine design improvement against toxoplasmosis. *Microbial Pathogenesis*. 149. 10.1016/j.micpath.2020.104488.
- 21) Charron, A. J., & Sibley, L. D. (2004). Molecular partitioning during host cell penetration by *Toxoplasma gondii*. *Traffic* (Copenhagen, Denmark), 5(11), 855–867. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2004.00228.x>.
- 22) Darnell, J. E., Jr, Kerr, I. M., & Stark, G. R. (1994). Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* (New York, N.Y.), 264(5164), 1415–1421. <https://doi.org/10.1126/science.8197455>.
- 23) Dubey, J. P., Lindsay, D. S., & Speer, C. A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical microbiology reviews*, 11(2), 267–299.
- 24) Dunay, I. R., Gajurel, K., Dhakal, R., Liesenfeld, O., & Montoya, J. G. (2018). Treatment of Toxoplasmosis: Historical Perspective, Animal Models, and Current Clinical Practice. *Clinical microbiology reviews*, 31(4), e00057-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-17>.
- 25) EFSA Journal; Surveillance and monitoring of Toxoplasma in humans, food and animals; 2007;83:1–64.
- 26) Gargaté, M. J., Ferreira, I., Vilares, A., Martins, S., Cardoso, C., Silva, S., Nunes, B., & Gomes, J. P. (2016). *Toxoplasma gondii* seroprevalence in the

- Portuguese population: comparison of three cross-sectional studies spanning three decades. *BMJ open*, 6(10), e011648. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011648>.
- 27) Gilbert, R. E., See, S. E., Jones, L. V., & Stanford, M. S. (2002). Antibiotics versus control for toxoplasma retinochoroiditis. The Cochrane database of systematic reviews, (1), CD002218. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002218>
- 28) Gómez-Chávez, F., Cañedo-Solares, I., Ortiz-Alegría, L. B., Flores-García, Y., Figueroa-Damián, R., Luna-Pastén, H., Gómez-Toscano, V., López-Candiani, C., Arce-Estrada, G. E., Bonilla-Ríos, C. A., Mora-González, J. C., García-Ruiz, R., & Correa, D. (2020). A Proinflammatory Immune Response Might Determine *Toxoplasma gondii* Vertical Transmission and Severity of Clinical Features in Congenitally Infected Newborns. *Frontiers in immunology*, 11, 390. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00390>
- 29) Gómez Marín, J. E. (2002). Tratamiento de la toxoplasmosis: esquemas para la forma congénita y en el inmunosuprimido. *Revista De Salud Pública*, 4(1s), 35-42. Recuperado a partir de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/18658>.
- 30) Gómez-Samblas M., Vílchez S., Racero J. C., Fuentes M. V., Osuna A. Quantification and viability assays of *Toxoplasma gondii* in commercial “serrano” ham samples using magnetic capture real-time qPCR and bioassay techniques. *Food Microbiology*. 2015; 46: 107-113.
- 31) Gomez-Samblas, M., Vilchez, S., Racero, J. C., Fuentes, M. V., & Osuna, A. (2016). *Toxoplasma gondii* detection and viability assays in ham legs and shoulders from experimentally infected pigs. *Food microbiology*, 58, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.04.005>.
- 32) Grimwood, J., Mineo, J. R., & Kasper, L. H. (1996). Attachment of *Toxoplasma gondii* to host cells is host cell cycle dependent. *Infection and immunity*, 64(10), 4099–4104. <https://doi.org/10.1128/IAI.64.10.4099-4104.1996>
- 33) Guex-Crosier Y. (2009). Update on the treatment of ocular toxoplasmosis. *International journal of medical sciences*, 6(3), 140–142. <https://doi.org/10.7150/ijms.6.140>.

- 34) Halonen, S. K., & Weiss, L. M. (2013). Toxoplasmosis. Handbook of clinical neurology, 114, 125–145. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53490-3.00008-X>.
- 35) Horta, A., Leça A., Alexandrino, A.M., Ângelo H., Carapau J., Marques L., Varandas L., Areias M. A., Carinhas M. J., Neto M. T., Vasconcelos O., Ventura T., - Protocolos de diagnóstico e Terapêutica em Infecçiology Perinatal. Secção de Neonatologia da Sociedade Portuguesa de Pediatria. Porto: Angelini Farmacêutica, 2007. ISBN: 978-972-99417-1-9. p. 37-49
- 36) Innes, E. A., Hamilton, C., Garcia, J. L., Chrysafidis, A., & Smith, D. (2019). A one health approach to vaccines against *Toxoplasma gondii*. Food and waterborne parasitology, 15, e00053. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00053>.
- 37) Jankovic, D., Kullberg, M. C., Feng, C. G., Goldszmid, R. S., Collazo, C. M., Wilson, M., Wynn, T. A., Kamanaka, M., Flavell, R. A., & Sher, A. (2007). Conventional T-bet(+) Foxp3(-) Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. The Journal of experimental medicine, 204(2), 273–283. <https://doi.org/10.1084/jem.20062175>.
- 38) Jankovic, D., Kugler, D. G., & Sher, A. (2010). IL-10 production by CD4+ effector T cells: a mechanism for self-regulation. Mucosal immunology, 3(3), 239–246. <https://doi.org/10.1038/mi.2010.8>.
- 39) Kim, S. J., Scott, I. U., Brown, G. C., Brown, M. M., Ho, A. C., Ip, M. S., & Recchia, F. M. (2013). Interventions for toxoplasma retinochoroiditis: a report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology, 120(2), 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.07.061>.
- 40) Lashay, A., Mirshahi, A., Parandin, N., Riazi Esfahani, H., Mazloumi, M., Reza Lashay, M., Johari, M. K., & Ashrafi, E. (2016). A prospective randomized trial of azithromycin versus trimethoprim/sulfamethoxazole in treatment of toxoplasmic retinochoroiditis. Journal of current ophthalmology, 29(2), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.joco.2016.10.002>.
- 41) Malinger, G., Werner, H., Rodriguez Leonel, J. C., Rebolledo, M., Duque, M., Mizyrycki, S., Lerman-Sagie, T., & Herrera, M. (2011). Prenatal brain imaging in congenital toxoplasmosis. Prenatal diagnosis, 31(9), 881–886. <https://doi.org/10.1002/pd.2795>.

- 42) Maubon, D.; Bougdour, A.; Wong, Y.-S.; Brenier-Pinchart, M.-P.; Curt, A.; Hakimi, M.-A.; Pelloux, H. Activity of the histone deacetylase inhibitor FR235222 on *Toxoplasma gondii*: Inhibition of stage conversion of the parasite cyst form and study of new derivative compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010, 54, 4843–4850.
- 43) McLeod, R., Kieffer, F., Sautter, M., Hosten, T., & Pelloux, H. (2009). Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis?. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(2), 320–344. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000200029>.
- 44) Miller, C. M., Smith, N. C., Ikin, R. J., Boulter, N. R., Dalton, J. P., & Donnelly, S. (2009). Immunological interactions between 2 common pathogens, Th1-inducing protozoan *Toxoplasma gondii* and the Th2-inducing helminth *Fasciola hepatica*. *PloS one*, 4(5), e5692. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005692>
- 45) Mimica, Francisco, Muñoz-Zanzi, Claudia, Torres, Marisa, & Padilla, Oslando. (2015). Toxoplasmosis, zoonosis parasitaria prevalente en Chile: recuento y desafíos. *Revista chilena de infectología*, 32(5), 541-549. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600008>.
- 46) Nayeri, T., Sarvi, S., Moosazadeh, M., Amouei, A., Hosseini, Z., & Daryani, A. (2020). The global seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in women who had spontaneous abortion: A systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(3), e0008103. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008103>.
- 47) Okubo, Y., Shinozaki, M., Yoshizawa, S., Nakayama, H., Wakayama, M., Hatori, T., Mituda, A., Hirano, T., Shimodaira, K., Yuzhu, Z., & Shibuya, K. (2010). Diagnosis of systemic toxoplasmosis with HIV infection using DNA extracted from paraffin-embedded tissue for polymerase chain reaction: a case report. *Journal of medical case reports*, 4, 265. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-4-265>.
- 48) Panadero-Fontán, Rosario; Fernández, Pablo; Cienfuegos, S.; Panceira, A. & López Sández, Ceferino; Vázquez, L.; Dacal, V.; Lago, Noelia; Pato, J.; Fernández, Gonzalo; Díez Baños, Pablo; Morrondo, Patrocinio. (2009). Seroprevalencia de *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en ganado ovino de Galicia.

- 49) Robben, P. M., Mordue, D. G., Truscott, S. M., Takeda, K., Akira, S., & Sibley, L. D. (2004). Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 172(6), 3686–3694. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.6.3686>.
- 50) Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, 25(2), 264–296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>.
- 51) Rothova, A., Meenken, C., Buitenhuis, H. J., Brinkman, C. J., Baarsma, G. S., Boen-Tan, T. N., de Jong, P. T., Klaassen-Broekema, N., Schweitzer, C. M., & Timmerman, Z. (1993). Therapy for ocular toxoplasmosis. *American journal of ophthalmology*, 115(4), 517–523. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)74456-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)74456-3).
- 52) Santos Sevivas, Tânia V.; Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas da região de Lisboa e Vale do Tejo e estudo dos factores de risco; Dissertação para a obtenção do grau de mestre em ciências biomédicas; 2011. <http://hdl.handle.net/10362/14024>.
- 53) Sher, A., Tosh, K., & Jankovic, D. (2017). Innate recognition of *Toxoplasma gondii* in humans involves a mechanism distinct from that utilized by rodents. *Cellular & molecular immunology*, 14(1), 36–42. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.12>
- 54) Shuai K, Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2003 Nov;3(11):900-11. doi: 10.1038/nri1226. PMID: 14668806.
- 55) Sinai, A. P., Watts, E. A., Dhara, A., Murphy, R. D., Gentry, M. S., & Patwardhan, A. (2016). Reexamining Chronic *Toxoplasma gondii* Infection: Surprising Activity for a "Dormant" Parasite. *Current clinical microbiology reports*, 3(4), 175–185. <https://doi.org/10.1007/s40588-016-0045-3>.
- 56) Tedford, E., & McConkey, G. (2017). Neurophysiological Changes Induced by Chronic *Toxoplasma gondii* Infection. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 6(2), 19. <https://doi.org/10.3390/pathogens6020019>
- 57) Tomita, T., Sugi, T., Yakubu, R., Tu, V., Ma, Y., & Weiss, L. M. (2017). Making Home Sweet and Sturdy: *Toxoplasma gondii* ppGalNac-Ts

- Glycosylate in Hierarchical Order and Confer Cyst Wall Rigidity. *mBio*, 8(1), e02048-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.02048-16>.
- 58) Tosh, K. W., Mittereder, L., Bonne-Annee, S., Hieny, S., Nutman, T. B., Singer, S. M., Sher, A., & Jankovic, D. (2016). The IL-12 Response of Primary Human Dendritic Cells and Monocytes to *Toxoplasma gondii* Is Stimulated by Phagocytosis of Live Parasites Rather Than Host Cell Invasion. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 196(1), 345–356. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501558>
- 59) SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group, Thiébaud, R., Leproust, S., Chêne, G., & Gilbert, R. (2007). Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet* (London, England), 369(9556), 115–122. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60072-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60072-5).
- 60) Úbeda Ontiveros, José Manuel; “Morfología y ciclo biológico de parásitos”. 2018
- 61) Vallochi, A. L., Goldberg, A. C., Falcai, A., Ramasawmy, R., Kalil, J., Silveira, C., Belfort, R., & Rizzo, L. V. (2008). Molecular markers of susceptibility to ocular toxoplasmosis, host and guest behaving badly. *Clinical ophthalmology* (Auckland, N.Z.), 2(4), 837–848. <https://doi.org/10.2147/opth.s1629>.
- 62) Waldman, B. S., Schwarz, D., Wadsworth, M. H., 2nd, Saeij, J. P., Shalek, A. K., & Lourido, S. (2020). Identification of a Master Regulator of Differentiation in *Toxoplasma*. *Cell*, 180(2), 359–372.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.013>.
- 63) Wei, H. X., Wei, S. S., Lindsay, D. S., & Peng, H. J. (2015). A Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Anti-*Toxoplasma gondii* Medicines in Humans. *PloS one*, 10(9), e0138204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138204>.
- 64) Zhou, X., Zhang, X. X., Mahmmoud, Y. S., Hernandez, J. A., Li, G. F., Huang, W. Y., Wang, Y. P., Zheng, Y. X., Li, X. M., & Yuan, Z. G. (2020). A Transcriptome Analysis: Various Reasons of Adverse Pregnancy Outcomes Caused by Acute *Toxoplasma gondii* Infection. *Frontiers in physiology*, 11, 115. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00115>